# Die Ausscheidung von Oestradiol, Oestron und Oestriol nach Injektion von Depotoestrogenen

Lotte Kurtz

1962

AUS DER I. FRAUENKLINIK UND HEBAMMENSCHULE DER
UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. W. Bickenbach

# Die Ausscheidung von Oestradiol, Oestron und Oestriol nach Injektion von Depotoestrogenen

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Lotte Kurtz
aus Reutlingen

München 1962

A. Schubert, München 5, Corneliusstr. 21 · Telefon 22 17 77

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

| | |
|---|---|
| Referenten: | Professor Dr. W. BICKENBACH |
| | Priv. Dozent Dr. R. KAISER |
| Dekan: | Professor Dr. W. SEITZ |

Tag der mündlichen Prüfung: 26.6.1962

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

MEINEN LIEBEN ELTERN

IN GROSSER DANKBARKEIT

GEWIDMET

# INHALTSVERZEICHNIS


Seite

A. Allgemeiner Teil

Vorkommen, Stoffwechsel und Ausscheidung der Oestrogene 8

B. Methodischer Teil

1. Chemische Methoden zur Bestimmung der Oestrogene 16

2. Angewandtes Verfahren nach J.B. Brown 17

C. Spezieller Teil

I. Literaturangaben 21

II. Eigene Versuche über die Oestrogenausscheidung nach Injektion von Oestradiolestern 22

Diskussion der Ergebnisse 30

Zusammenfassung 35

INHALTSVERZEICHNIS

Seite

A. Allgemeiner Teil

Vorbemerkungen, Einteilung und Ansprüchlichkeit der Oxydasen 5

B. Methodischer Teil

1. Chemische Methoden zur Bestimmung der Oxydasen 10

2. Angewandte Verfahren nach J.B. Brown 11

C. Spezieller Teil

1. Literaturangaben. 21

II. Eigene Versuche über die Oxydasenausscheidung nach Injektion von Oxydasegiften 29

Diskussion der Ergebnisse 40

Zusammenfassung 35

# EINLEITUNG

Die physiologisch-chemische, die biologische und die klinische Forschung bemühte sich in den letzten Jahren, über die chemische Struktur, die Biosynthese, den Abbau, die Wirkungsintensität, die Mengenverhältnisse und die Ausscheidung der oestrogenen Gruppe genauere Aufschlüsse zu erhalten. Die dabei gewonnenen Erkenntnisse ermöglichten den Aufbau der modernen gynäkologischen Hormonbehandlung, die im einzelnen folgende Therapieformen kennt:

1. Die Substitutionstherapie
2. Die Stimulationstherapie
3. Die Bremstherapie
4. Die lokale Therapie
5. Die Sexualhormontherapie bei extragenitalen Störungen.

Ziel dieser Hormonanwendungen ist die Wiederherstellung oder die Nachahmung des physiologischen Zustandes. Daraus ergibt sich die Forderung nach einer Applikation der Hormone in kleineren Dosen über eine bestimmte Dauer. Deshalb wurden Depothormone geschaffen mit protrahierter Wirkung, die unter den zur Verfügung stehenden natürlichen und künstlichen Hormonen zunehmend an Bedeutung gewinnen. Eine genaue Kenntnis der Wirkungsdauer der Depot-Präparate und der im menschlichen Organismus zu erreichenden Hormonkonzentration, sowie die Kenntnis des Zeitpunktes des Konzentrationsmaximums und der Form des Konzentrationsabfalls ist die Voraussetzung für die richtige Dosierung in der Therapie. Als Masstab des physiologischen Geschehens können die Höhe und Dauer der Oestrogenausscheidung im Urin bei den einzelnen Entwicklungsstufen der Frau gelten. Seit J.B. BROWN 1955 ein Verfahren veröffentlicht hat, durch das die getrennte Extraktion der drei Oestrogenfraktionen Oestradiol, Oestron und Oestriol aus dem Urin und ihre quantitative Erfassung in der Grössenordnung einer 24 Stundenausscheidung möglich geworden ist, können aus der Ausscheidung auch Rückschlüsse auf die im Organismus vorhandenen Oestrogenmengen gezogen werden.

In der vorliegenden Arbeit wurde die Oestrogenausscheidung nach dem Verfahren von J.B. BROWN vor und nach der Injektion verschiedener Oestradiolester untersucht, um Aufschlüsse über die folgenden, praktisch wichtigen Fragen zu erhalten:

a) Über die Verweildauer der einzelnen Ester im Organismus
b) Über die prozentuale Ausbeute an Harnoestrogenen gegenüber der injizierten Oestrogenmenge
c) Über die mutmassliche Höhe der Oestrogenproduktion während der Geschlechtsreife der Frau
d) Über das Mengenverhältnis der Oestrogenfraktionen untereinander.

# ALLGEMEINER TEIL

## DAS VORKOMMEN DER OESTROGENE, IHR STOFFWECHSEL UND IHRE AUSSCHEIDUNG

### 1. VORKOMMEN DER OESTROGENE

Unter der Wirkung des gonadotropen Follikelreifungshormons (FRH, FSH) entwickeln sich die Follikel und füllen sich mit der Follikelflüssigkeit, die oestrogene Hormone enthält. Die Oestrogene werden im unvollständig und vollständig reifenden Follikel gebildet. Als Bildungsort im Follikel kommen in erster Linie die Thecazellen, aber auch die Granulosazellen in Betracht. Ferner werden Oestrogene im Gelbkörper in der zweiten Hälfte des Sexualcyklus und vom Schwangerschaftsgelbkörper gebildet, besonders noch in den ersten Monaten der Schwangerschaft. In der Placenta werden sie mutmasslich von Anfang an gebildet.

Oestrogene finden sich auch im menschlichen Colostrum und Speichel. Ausserdem finden sich in 1 Liter Sammelsperma von Männern (fertil und nichtfertil) etwa 60 $\mu\gamma$ Oestron, 10 $\mu\gamma$ ß-Oestradiol und 30 $\mu\gamma$ Oestriol.

Das erste kristallin gewonnene Oestrogen 1929 durch BUTENANDT war das Oestron aus Schwangerenharn. 1930 isolierte MARRIAN das Oestriol ebenfalls aus Schwangerenharn. $\alpha$-Oestradiol wurde von DOISY und Mitarbeiter 1935 in Schweineovarien gefunden und ß-Oestradiol im Schwangerenharn, im Harn trächtiger Stuten, in der Placenta, sowie in Hengst- und Menschenhoden. Im biologischen Testversuch erwies sich das $\alpha$-Oestradiol als das wirksamere 1).

Aus dem Harn trächtiger Stuten wurden ausserdem noch das sog. Equilin, das Equilenin und das Hippulin gewonnen, die sich vom Oestron nur durch die grössere Zahl der Doppelbindungen unterscheiden.

In neuester Zeit konnten im Schwangerenharn noch andere oestrogene Verbindungen isoliert werden. 1955 war es das früher bereits synthetisierte 16-Epioestriol (MARRIAN und BAULD) 35). Die MARRIAN-Gruppe 37) fand in den folgenden Jahren ausserdem im Schwangerenharn 16-$\alpha$-Hydroxyoestron (1957), 16-Keto-17-ß-Oestradiol (1958) und 16-ß-Hydroxyoestron (1958) 31), das als unmittelbarer Vorläufer von 16-Epioestriol angesehen wird. Die beiden letztgenannten Substanzen waren auch nach Gabe von markiertem Oestradiol im Harn nachweisbar. Im Schwangerenurin wurden noch zwei weitere Kober-Chromogene isoliert, von denen eines bisher nicht charakterisiert werden konnte, das andere wurde als 18-Hydroxyoestron identifiziert (33, 34). LOKE und Mitarbeiter 32) fanden bei Untersuchungen über den Stoffwechsel von 16-$C^{14}$ markiertem Oestradiol und Oestron im Harn die beiden Verbindungen 2-Methoxyoestron (1957) und 2-Methoxyoestriol (siehe Strukturformeln S. 36). Die Zahl der im Organismus gefundenen Oestrogene hat sich in letzter Zeit also nicht unbeträchtlich erhöht.

Ausser den natürlichen gibt es noch halbsynthetische und synthetische Oestrogene, die z. T. peroral wirksamer sind als die natürlichen Oestrogene pa-

renteral. Sie zeigten jedoch bei der klinischen Verwendung in manchen Fällen leicht toxische, vor allem intestinale Nebenwirkungen (Mattigkeit, Übelkeit, Erbrechen).

Die Oestrogenwirkung ist nicht an ein spezifisches Grundmolekül, etwa an das Cyclopentanoperhydrophenanthren gebunden. Es gibt vielmehr zahlreiche synthetische Abwandlungsprodukte und vollsynthetisierte Substanzen mit typisch oestrogener Wirkung, die mit genuinen Hormonen chemisch zum Teil überhaupt keine Übereinstimmung mehr zeigen. Voraussetzung für die Wirksamkeit ist das Vorhandensein wenigstens eines aromatischen Ringes und einer (phenolischen) Hydroxylgruppe an diesem Ring. Monofunktionelle Substanzen sind weniger wirksam als bifunktionelle. Die Wirkung der synthetischen Oestrogene entspricht der der natürlichen Oestrogene sehr weitgehend. Die Ausscheidung und Entgiftung erfolgt wie bei den natürlichen Oestrogenen.

## 2. DER STOFFWECHSEL DER OESTROGENE

Nach AMMON und DIRSCHERL 2) kommen für die Bildung der Oestrogene drei Möglichkeiten in Betracht:

### 1. Der Abbau von Cholesterin.

Dieser Weg wurde schon in früheren Arbeiten für möglich gehalten, blieb aber unbewiesen. Später wurde im Interstitium des Ovarium von Kaninchen, Ratten und Meerschweinchen eine doppelbrechende Substanz (Cholesterinester) festgestellt, die als Vorstufe der Oestrogene angesehen wird. Sie findet sich nicht oder kaum bei infantilen und anoestrischen Tieren, dagegen reichlich im Oestrus und während der Schwangerschaft. Nach Injektion von Gonadotropinen verschwindet die Substanz in wenigen Stunden. Aber nicht nur die Mobilisierung, sondern auch die Speicherung der Vorstufe wird vom HVL kontrolliert. Kleine Mengen von Stuten-Gonadotropin (FSH) bewirken zusammen mit Chorion-Gonadotropin eine Speicherung von Cholesterinestern, während grosse Mengen mobilisierend wirken.

### 2. Synthese aus Essigsäure.

Das Ovarium vermag aus $C^{14}$-Acetat radioaktives Oestron und ß-Oestradiol aufzubauen. Es hat sich kein Hinweis ergeben, dass der Aufbau über das gleichfalls entstehende Cholesterin geht. Auch im Hoden können Oestrogene aus Acetat entstehen.

### 3. Bildung aus Androgenen.

Aus Testosteron und anderen Androgenen können im Ovarium und in der Placenta Oestrogene gebildet werden.

a) Der Übergang der Oestrogene nach den Untersuchungen von RYAN und ENGEL 43).

1) 17-ß-Oestradiol --> Oestron.

Oestron wurde im Urin beim Mann und bei der Frau nach Verabreichung von 17-ß-Oestradiol, ausserdem bei mehreren männlichen und weiblichen Tieren festgestellt. Die Autoren 43) fanden die gegenseitige Umwandlung von Oestron und ß-Oestradiol bei Verwendung von Rattenleberschnitten; auch Hoden und Leber des Menschen sind dazu befähigt, weniger oder gar nicht Endometrium und Mamma. Beim Durchströmungsversuch an der menschlichen Placenta liessen sich ebenfalls Oestron und Oestradiol ineinander überführen.

Ausserdem wurde festgestellt, dass 17-ß-Oestradiol-16-$C^{14}$ von menschlichem Ovarialgewebe zu Oestron und Oestriol, bzw. von Hoden, Leber, Niere und Muskulatur des Menschen zu Oestron oxydiert wird.

2) Oestron --> 17-ß-Oestradiol.

Nach Injektion von Oestron wurde das Reduktionsprodukt 17-ß-Oestradiol im Harn junger Männer, schwangerer Frauen und in der Galle von Fistelhunden vorgefunden.

3) Oestron --> α-Oestradiol.

Nach Injektion von Oestron liess sich das Reduktionsprodukt α-Oestradiol mit Wahrscheinlichkeit im Harn von normalen Kaninchen nachweisen.

4) 17-ß-Oestradiol --> 17-α-Oestradiol.

Da das ß-diol zu Oestron dehydriert und dieses auch zum α-diol reduziert werden kann, ist der Übergang beider Diole ineinander über Oestron möglich. Die Ausscheidung des α-diols im Harn nach Zufuhr von ß-diol wurde festgestellt bei normalen, sowie ovari- und hysterektomierten Kaninchen.

5) Oestron --> Oestriol.

Nach Injektion von Oestron wurde Oestriol aus dem Harn junger Männer und Frauen gewonnen, im letzten Falle auch nach Zufuhr von ß-Oestradiol. Der Weg vom Oestron zum Oestriol geht vielleicht über 16-Keto-Oestron und 16-Keto-17-ß-Oestradiol, welche beide beim Mann zur Ausscheidung von Oestriol im Harn führen. Nach MARRIAN ist es aber wahrscheinlicher, dass der Weg vom Oestron zum Oestriol bzw. 16-epi-Oestriol über das 16-α- bzw. 16-ß-Hydroxyoestron führt.

Oestron --> 16-α-Hydroxyoestron --> 16-ß-Hydroxyoestron

↓ ↓

16-α-Oestriol --> 16-ß-Oestriol = 16-epi-Oestriol

6) Oestriol --> Oestron.

Für diese Umwandlung liegt bisher kein Beweis vor.

b) Die Inaktivierung der Oestrogene.

Die grösste Bedeutung bei der Inaktivierung hat die Koppelung der Keimdrüsenhormone an Glucuronsäure. Sie erfolgt in der Leber und setzt die Wirksamkeit der Hormone herab. Für die Oestrogenausscheidung im Urin ergaben Hydrolyseversuche mit Enzymen, dass Oestron meist mit Schwefelsäure und Benzoesäure verestert auftritt und Oestriol hauptsächlich als Salz der Glucuronsäure erscheint. Das Oestradiol geht alle diese Verbindungen ein 22).

Die phenolischen Oestrogene können im Körper ausserdem durch Oxydation zu zweiwertigen Phenolen inaktiviert werden.

Es erhebt sich die Frage nach dem Ort der Inaktivierung. Nach ZONDEK ist bei Ratte und Rind nur Leberbrei imstande, Oestron zu inaktivieren, nach anderen 47) auch das Blut von Hunden. HELLER 23) zeigte, dass Rattenleberschnitte Oestron zu aktivieren wie zu inaktivieren vermögen. Auch durch Tyrosinase werden Oestron und Oestradiol bei $p_H$ 8 inaktiviert. Oestriol wird durch Rattenleberschnitte ebenfalls zerstört. Nach FLASCHENTRÄGER 19) wirkt ausserdem noch eine spezifische Oestronase mit. In einem System von Glucose-6-phosphat, Triphosphor-Pyridin-Nucleotid (TPN) und "Zwischenferment" aus Meerschweinchen-Erythrocyten lässt sich Oestron zu ß-Oestradiol hydrieren. Nach LEVY wird Oestron (auch Oestron-16-$C^{14}$) von menschlichem Blut nicht verändert. Für die Inaktivierung von ß-Oestradiol durch Rattenleber sind Diphosphor-Pyridin-Nucleotid (DPN, Codehydrase I), Flavin-Adenin-Dinucleotid (FAD) und Cytochrom c notwendig.

Während durch Diphosphor-Pyridin-Nucleotid (DPN) und Nicotinsäureamid verstärktes Rattenleberhomogenat Oestron und Oestradiol im Uterustest abbaut, vermögen dies die durch fraktionierte Zentrifugierung daraus erhaltenen Zellbestandteile (Kerne, Mitochondrien, Mikrosomen, Cytoplasma) einzeln nicht zu tun. Die Kombination Cytoplasma-Mikrosomen zeigt aber etwa die gleiche Wirksamkeit wie das Ausgangshomogenat, wobei das Cytoplasma durch Riboflavinphosphat ersetzt werden kann. Obwohl Nieren- und Speicheldrüsengewebe die Oestrogene nicht abbauen, kann ihr Cytoplasma das der Leber ersetzen. Der Wirkstoff des Plasmas ist hitzelabil, demnach wohl ein Ferment. Für die Inaktivierung der Oestrogene in der Leber beim Menschen spricht die im Vergleich zur Vena hepatica höhere biologische Aktivität des Blutes der Arteria femoralis.

Leberbrei normaler oder kastrierter männlicher Meerschweinchen wirkt stärker inaktivierend als der von normalen, kastrierten oder schwangeren Weibchen. Dagegen zeigten Leberschnitte von Patienten, auch mit Leberschäden keine unterschiedliche Wirksamkeit. Bei Eiweissmangel leidet die Fähigkeit der Leber zur Inaktivierung von Oestron, z.B. bei Beschränkung des Caseingehaltes. Hier soll bei ovariektomierten, erwachsenen Ratten, denen ein ß-Oestradiol-Pressling unter die Milzkapsel implantiert wurde, bei Entzug der Vitamine $B_1$ und $B_2$ das Inaktivierungsvermögen der Leber verschwinden.

Versuche an Meerschweinchen, die monatelang mit C $Cl_4$ gefüttert worden waren, zeigten, dass Leberschädigungen zu einer Verringerung der Zerstörung

der Oestrogene führen. Die Tiere schieden 350 mal mehr Oestron aus als normal.

Bei der Lebercirrhose kann eine Gynäkomastie auftreten, die Ausscheidung der Oestrogene im Harn ist dann erhöht, dabei treten nur freie Oestrogene auf. Die Gynäkomastie ist aber nicht in jedem Fall bei gesteigerter Ausscheidung vorhanden. Letztlich kann man die Bildung der gebundenen Formen in der Leber als gesichert ansehen, wie ja die Phenole allgemein in diesem Organ entgiftet werden 2).

Mit der Inaktivierung der Oestrogene in der Leber hängt auch die meist geringere Wirksamkeit bestimmter Oestrogene bei oraler Zufuhr zusammen, bei der die Hormone die Leber passieren müssen. Oestriol, das oral relativ gut wirksam ist, wird von der Leber weniger angegriffen. Der Unterschied zwischen parenteraler und oraler Zufuhr, der bei den natürlichen Oestrogenen am grössten ist, verringert sich bei künstlichen Oestrogenen offenbar deswegen, weil diese Stoffe vom Körper schwerer angegriffen werden.

Im Gegensatz zu der Meinung, dass die Leber Oestrogene inaktiviert und die Bildung von Oestriolglucuronid als ein Ausscheidungsprozess aufzufassen ist, steht die von FISHMAN 18) vertretene Anschauung, wonach die Leber durch Bildung von Oestrogen-Konjugaten, besonders Oestriol-ß-Glucuronid, zur Verwertung der Oestrogene beitrage. Hier spielen auch die Befunde von ROBERTS und SZEGO 42) eine Rolle: Werden weiblichen Ratten 14 Tage nach der Ovariektomie zwei Drittel der Leber entfernt, so reagiert der Uterus 12-18 Stunden danach auf Oestradiol sehr viel schwächer, mit zunehmender Regeneration der Leber nimmt die Reaktionsfähigkeit des Uterus wieder zu. Die Leber scheint demnach auch für die chemische Aktivierung der Oestrogene notwendig zu sein. Von der Leberfunktion am stärksten abhängig ist die Wirkung des Oestrons, am wenigsten die des Oestriols.

c) Oestrogene im Blut.

Im peripheren Blut der geschlechtsreifen Frau wurden nach PUCK 38) 0,075 γ bis 0,48γ Oestriol pro ccm Plasma gefunden, nach PREEDY 40) 0,07γ Oestradiol, 0,2 γ Oestron und 0,29γ Oestriol pro 100 ccm Plasma, VARANGOT 45) fand 7γ Oestradiol/Oestron und 0,7γ Oestriol pro 100 ccm Plasma. In der Schwangerschaft ergaben fluorimetrische Bestimmungen Mittelwerte von 11,8γ Oestradiol/Oestron und 5,17γ Oestriol pro 100 ccm Plasma, bzw. von 1,25γ bis 2,93γ Oestradiol, 2,65γ bis 10,38 γ Oestron und 4,28γ bis 17,5γ Oestriol pro 100 ccm Plasma.

Rund zwei Drittel der oestrogenen Aktivität des Blutplasmas ist an Eiweiss gebunden und zwar wahrscheinlich an ein ß-Globulin, man findet sie in der ß-Lipoidfraktion. Wahrscheinlich handelt es sich um Oestriol, vielleicht in Form seines Glucuronids. Die Bindung an Eiweiss ist locker, durch Dialyse lässt sich das Oestrogen abtrennen. Auch in vitro scheint die Leber zur Bildung eines Oestrogenprotein-Komplexes befähigt zu sein. Es liess sich nachweisen, dass Oestron-

16-$C^{14}$ oder ein noch wirksamer Metabolit desselben an die Albuminfraktion des Rattenserums gebunden wird.

Injizierte Oestrogene (Oestron, Oestradiol) werden im menschlichen Blutplasma hauptsächlich an die α-Globulin- und die Albuminfraktion gebunden, wie aus Radioaktivitätsmessungen und Bestimmung der oestrogenen Wirksamkeit dieser Fraktionen hervorgeht.

### 3. Die Ausscheidung der Oestrogene im Harn.

Die Oestrogenmetaboliten, zum grössten Teil an Glucuronsäure gebunden, werden zu 50% im Urin ausgeschieden, zu 50% gelangen sie mit der Galle in den Darm. Diese biliären Oestrogene werden zum grössten Teil aus dem Darm rückresorbiert und werden nach Leberpassage erneut zu 50% in der Galle, zu 50% im Urin ausgeschieden. Von der zugeführten Radioaktivität werden etwa 65% im Harn, 10% in den Faeces gefunden. Das Schicksal der restlichen 25% ist noch unbekannt. Wenn man die im Urin gefundenen markierten Oestrogene = 100 setzt, ergibt sich folgende Verteilung für die verschiedenen Metaboliten 44):

| | | | |
|---|---|---|---|
| | | 16-α-Hydroxyoestron } | 7 |
| 17-ß-Oestradiol | 5 | 16-oxo-17-ß-Oestradiol } | |
| Oestron | 10 | 16-ß-Hydroxyoestron | 3 |
| Oestriol | 30 | 2-Methoxyoestron | 3 |
| 16-epi-Oestriol | 6 | 2-Methoxyoestriol | 1 |

unbekannt: 35.

BROWN 9) hat mit seiner Methode bei 8 zyklusstabilen Frauen folgende Durchschnittswerte in µg/24 Stunden gefunden.

| | Oestriol | Oestron | Oestradiol |
|---|---|---|---|
| Beginn des Menstruationszyklus | 6 ( 0-15) | 5 ( 4- 7) | 2 (0- 3) |
| Zeit der Ovulation | 27 (13-45) | 20 (11-31) | 9 (4-14) |
| Höhe der Lutealphase | 22 ( 8-72) | 14 (10-23) | 7 (4-10) |

Nach BROWN 10) und Arbeiten des eigenen Labors (39, 49) wurde aus 25 normalen Zyklen folgende durchschnittliche Tagesmenge an Oestrogen während des Gesamtzyklus berechnet:

$4 \pm 1\gamma$ Oestradiol
$10 \pm 2\gamma$ Oestron
$15 \pm 3\gamma$ Oestriol

16-epi-Oestriol wird in der zweiten Hälfte des Menstruationszyklus in Mengen von etwa 1 µg/Tag ausgeschieden.

Die Ausscheidung zeigt zwei Gipfel: Bei der Ovulation in der Zyklusmitte

steigt die Oestrogenausscheidung stark, in der Mitte der Lutealphase etwas weniger hoch an, wobei die Oestriolwerte jeweils um einen Tag nachhinken. Die laufende Kontrolle der Oestrogenausscheidung gibt demnach wertvollen Aufschluss über die Ovarialtätigkeit und der "Ovulationsgipfel" zeigt an, dass ein Follikelsprung bevorsteht.

Das Verhältnis von Oestradiol : Oestron : Oestriol ist nach Gabe von Oestradiol oder Oestron das gleiche wie im Harn unbelasteter Personen in der Follikel- oder Corpus luteum-Phase, nämlich 13 : 42 : 45% der Gesamtoestrogene. Wenn man Oestriol injiziert, findet man nur Oestriol. Diese Befunde bestätigen die Annahme, dass im menschlichen Ovarium Oestradiol und/oder Oestron, aber nicht Oestriol gebildet wird 44).

Während der Schwangerschaft sind nach BROWN 13) folgende Ausscheidungswerte zu finden: Um die 7. Woche der Schwangerschaft steigen die Werte an auf etwa 200 µg Oestriol, 100 µg Oestron und 50 µg Oestradiol. Bis zur Geburt (10. Monat) erfolgt ein weiterer Anstieg auf etwa 20-40 mg Oestriol, 1-2 mg Oestron und 0,6 mg Oestradiol. Nach der Geburt fallen die Werte rasch ab, davon Oestriol am langsamsten. Durchweg sind nach MARRIAN 36) sieben mal soviel Oestriol wie Oestron vorhanden, beide zu etwa 99% in gebundener Form. Die Ausscheidung von 16-epi-Oestriol in den letzten Schwangerschaftsmonaten beträgt ungefähr 350 bis 800 µg/Tag 46).

KAISER 27) fand zu Beginn des 2. Schwangerschaftsmonats im Urin 57γ Oestriol, 30γ Oestron und 15γ Oestradiol, diese Werte stiegen bis zu 28 000γ Oestriol, 1 800γ Oestron und 850γ Oestradiol im 10. Schwangerschaftsmonat und entsprechen damit in etwa den BROWN'schen Werten. Die Relation Oestradiol : Oestron : Oestriol betrug in der ersten Hälfte des 2. Monats 1 : 2,3 : 4,3 und im 10. Monat 1 : 2,4 : 42,6. Das Verhältnis Oestradiol : Oestron blieb also konstant, während Oestriol eine wesentlich stärkere Zunahme zeigte.

Die Oestrogenausscheidung nach der Menopause hört individuell verschieden rasch auf. Die nach BROWN bestimmten Gesamtoestrogene bei Frauen in der Menopause liegen zwischen 3,1γ und 8,1γ, im Mittel bei 5,8γ 44).

Bei Fällen von anovulatorischem Zyklus liegt die Oestrogenausscheidung ohne markante Gipfel um Tageswerte von 20γ. Bei funktionellen Blutungen und glandulär-cystischer Hyperplasie liegen die Oestrogenwerte meist konstant relativ hoch um 30γ mit Tageswerten bis zu 100γ 44).

## Messung der Oestrogene

Die Oestrogene werden biologisch in Mäuse-einheiten (ME) und Ratteneinheiten (RE) gemessen, chemisch in γ. Dabei entsprechen
nach LAQUEUR 1 RE = 3 ME,
nach BERGER 1 RE = 5 ME.

Die Hygienekommission des Völkerbundes hat ein Standardpräparat des kristallisierten Follikelhormons (Oestron) bereiten lassen, von dem 0,1 g die Wir-

kung einer Internationalen Oestroneinheit ausübt:
1 IE = 0,0001 g = 0,1 mg = 1 des Standardpräparates.

Daneben gibt es noch die Internationale Benzoat-Einheit, die durch 0,1 mg eines Standardpräparates von Benzoyl-dihydro-Follikelhormon (Benzoyloestradiol) dargestellt wird.
1 IE = 0,0001 g = 0,1 mg = 1 des Oestradiolbenzoatpräparates.
Diese beiden Einheiten sollen nicht miteinander verglichen werden.
Es entsprechen in ihrer Wirkung am Endometrium 30):

1 mg Oestriol: 75 ME
1 mg Oestron: 8 000 ME
1 mg Oestradiol: 75 000 ME

## CHEMISCHE METHODEN ZUR BESTIMMUNG DER OESTROGENE

Die erste Messung der Wirkung des Follikelhormons wurde 1923 mit dem ALLEN-DOISY Test 1) möglich, einer biologischen Methode zur Bestimmung und Messung von Oestrogenen.

Die meisten chemischen Methoden sind im Prinzip ähnlich, nach saurer Hydrolyse werden die Hormone aus dem Urin extrahiert, gereinigt und in die einzelnen Oestrogenfraktionen zerlegt. Für die Messung der Fraktionen wird seit langem gravimetrischen oder kolorimetrischen bzw. fluorimetrischen Methoden der Vorzug gegeben.

1955 gelang es J.B. BROWN 12), alle drei Oestrogene exakt zu trennen in Fortführung eines Verfahrens von BACHMANN und PETTIT 3), die erstmalig eine Trennung in eine Oestriol und eine Oestradiol/Oestron-phase auf Grund von Löslichkeitsunterschieden durchführten, das Verfahren war von JAILER 25) für den klinischen Gebrauch ausgebaut worden. Ausserdem übernahm J.B. BROWN 12) von M. KELLER 28) die Auftrennung des rohen Phenolsteroidextraktes in die schwach phenolische Oestradiol/Oestron-phase und die stark phenolische Oestriolphase auf einer Aluminiumsäule, die KELLER 1953 zum erstenmal durchführte. Da bei dem Verfahren eine kolorimetrische Messung der Oestrogene zur Anwendung kommt, sind kleinste Verunreinigungen schon störend und es ist immer wieder versucht worden, diese auszuschalten. KOBER 29) schlug 1931 eine Methode zur Färbung der Oestrogene mittels verdünnter Schwefelsäure vor, die zu verbessern und zu spezifizieren von den verschiedensten Autoren in der Folgezeit versucht wurde. 1938 verbesserte KOBER 30) selbst das Verfahren durch Anwendung von ß-Naphtholsäure.

Einen Fortschritt brachte 1948 die Ultraviolett-Spektrophotometrie nach FRIEDGOOD-GARST und HAAGEN-SMITH 20). Es wird dabei die Absorptionsfähigkeit der gereinigten und gefärbten Oestrogenfraktionen im BECKMANN-Photometer gemessen. (Färbung mit 70%iger Schwefelsäure). BREITNER und EICHSTÄTTER 7) haben die durch spektrophotometrische Messung in verschiedenen Spektralbereichen gewonnenen Extinktionskurven nach der ALLEN'schen Formel

$$F_x = E_x - \frac{E_a + E_b}{2}$$

rechnerisch ausgewertet.

Die störende Extinktion nicht eliminierbarer Urochrome wird dadurch weitgehend korrigiert.

Das BROWN'sche Verfahren, das z. Zt. als das beste gilt zur Bestimmung der Oestrogene im Harn von Männern und Nichtschwangeren, ist inzwischen vereinfacht worden von JAYLE 26), FURUHJELM und WALLER 21) und ITTRICH 24).

ITTRICH konnte neuerdings mit einem beachtenswerten Färbeverfahren bis zu 10 quantitative summarische Oestrogenbestimmungen in einer Stunde durch-

führen: Er verdünnt ein Hydrochinon-Schwefelsäure-Reagens mit einem Gemisch von para-Nitrophenol (2 Gew.%) und Äthanol (1 Vol.%) in Chloroform auf eine Säurekonzentration von 20-30%. Damit wird der Oestrogenfarbkomplex aus dem Trockenrückstand von 0,1 ccm Vollharn selektiv gefärbt und extrahierbar. Alle Vereinfachungen haben aber auch Einbussen in der Zuverlässigkeit gebracht.

BAULD (5, 6) trennt die Oestrogene an Celite 535-Säulen; diese Methode eignet sich wegen ihrer Kompliziertheit weniger als Routinebestimmung, aber gut für die Isolierung von Oestrogenen aus Urin.

1957 hat BROWN 14) durch Einfügung eines weiteren Reinigungsschrittes (Erhitzen mit KOH vor der Methylierung) seine Methode noch verbessert.

## Angewandtes Verfahren nach J.B. BROWN

Die in dieser Arbeit vorliegenden eigenen Ergebnisse wurden nach dem chemischen Verfahren von J.B. BROWN ermittelt, das 1955 veröffentlicht wurde und die drei Oestrogenfraktionen Oestron, Oestradiol und Oestriol auch in kleinsten Mengen zu erfassen und zu spalten erlaubt (bis 4γ pro 24 Stunden-Urin).

BROWN konnte bei eigenen Recoveryversuchen 80% bis 90% des zugesetzten Materials wiedergewinnen.

BREUER und Mitarbeiter 8) haben die hohe Spezifität der BROWN'schen Methode belegt durch Vergleich der chemisch bestimmten Oestrogenwerte mit der biologischen Aktivität der phenolischen Extrakte. YOUNG, BULBROOK und GREENWOOD haben cytologisch die Proliferation des Vaginalepithels mit der nach BROWN bestimmten Oestrogenmenge im Urin verglichen und befriedigende Übereinstimmung festgestellt 48).

## Arbeitsvorschrift

Es wurden bei allen Versuchen grundsätzlich die Bedingungen der Originalvorschrift eingehalten.

### 1. Hydrolyse und Extraktion.

a) 200 ml einer 24-Stunden-Urinmenge werden unter dem Refluxkondensator zum Kochen gebracht, dann mit 30 ml konzentrierter Salzsäure (11 N) versetzt und 60 Minuten lang weitergekocht. Anschliessend erfolgt rasche Abkühlung.
b) Der abgekühlte, hydrolisierte Urin wird 1 x mit 200 ml und anschliessend mit 2 x 100 ml Äther nach dem 3-Scheidetrichtersystem extrahiert. Die saure Fraktion wird durch Waschen des Äthers mit einer gesättigten $Na_2CO_3$-Lösung (80 ml) von $p_H$ 10,5 entfernt. Den Ätherextrakt schüttelt man mit 20 ml NaOH (8%ig) kräftig durch. Die NaOH-Schicht, die auch einige Oestrogene enthält, wird mit 80 ml 8%iger gesättigter $NaHCO_3$-Lösung teilweise neutralisiert, so dass die Karbonationenkonzentration zunimmt, und noch einmal mit dem Ätherextrakt ausgeschüttelt. Auf diese Weise gelangen die Oestrogene in den Äther zurück, die

störenden Substanzen bleiben in der wässrigen Schicht, die verworfen wird. Nun wäscht man den Äther mit 20 ml 8%iger gesättigter $NaHCO_3$-Lösung und mit 10 ml destilliertem Wasser.

## 2. Extraktion der Phenolfraktion und Methylierung.

a) Der Ätherextrakt wird mit einem 500 ml Kolben bis zur Trockne eingedampft. Den Rückstand löst man sofort in 1 ml Äthanol, um Oestriol, das in Benzol nicht leicht löslich ist, aufzulösen und kühlt den Kolben ab. Sein Inhalt wird dann mit 25 ml Benzol in einen Scheidetrichter gebracht, der bereits 25 ml Leichtpetroleum enthält. Das Benzol-Leichtpetroleumgemisch extrahiert man mit:

a) 2 x 25 ml aqua dest.

b) 2 x 25 ml 1,6%iger NaOH

$a_1$) Der Wasserextrakt enthält das gesamte Oestriol und kommt in einen verschlossenen
100 ml Kolben mit 0,9 g $H_3BO_3$ + 4 ml 20%iger NaOH.

$b_1$) Der NaOH-Extrakt, der das Oestron-Oestradiol enthält, kommt ebenfalls in einen
100 ml Kolben mit nur 0,9 g $H_3BO_3$.

b) Beide Behälter werden in einem Wasserbad auf 37°C erwärmt. Danach fügt man den Gemischen je 1 ml Dimethylsulfat bei, schüttelt kräftig durch und stellt sie erneut 10-30 Minuten lang ins Wasserbad. Der Vorgang wird nach Zugabe eines weiteren ml Dimethylsulfat zusammen mit 2 ml 20%iger NaOH wiederholt. Nach weiteren 30 Minuten ist die Methylierung beendet.

Die Methylierung erfolgt wirksam in alkalischem Milieu bei Anwesenheit von Dimethylsulfat-$H_3BO_3$-Pufferlösung ($p_H$ zwischen 10 und 11,5). Die Reaktion soll langsam bei 37°C ablaufen.

## 3. Entfernung der störenden Substanzen durch Oxydation und Extraktion der methylierten Oestrogene.

a) Jedem Kolben sind zuzugeben:

10 ml 20%ige NaOH
2,5 ml 30%iges $H_2O_2$

b) Die methylierte Oestriolfraktion wird mit
25 ml Benzol,
die methylierte Oestron-Oestradiolfraktion mit
25 ml Leichtpetroleum
in Scheidetrichtern extrahiert, nachdem die Lösungsmittel zuerst dazu benutzt werden, die entsprechenden Methylationsbehälter zu spülen.
Die Benzol-Leichtpetroleumextrakte werden
2 x mit 5 ml aqua dest.
gewaschen und das Wasser möglichst vollständig abgelassen.

## 4. Chromatographie.

Sie führt zu einer Aufteilung in die drei Oestrogenfraktionen: in das "stark phenolische" Oestriol und das "schwach phenolische" Oestron und Oestradiol.

Bei der chromatographischen Trennung werden standardisierte Glasröhren verwendet, die mit einer Alaunerdesäule gefüllt sind.

Die Säule ist folgendermassen aufgebaut:

Zunächst eine Watteschicht unten in der Chromatogrammtube, dann 2 g Aluminiumoxyd, das mit drei Tropfen aqua dest. passend aktiviert wird. Zuletzt ungefähr 1 ccm in Essig-Äthanol gewaschenen Sand.

Die methylierte, im Benzol gelöste Oestriolfraktion durchläuft nun die ebenfalls mit Benzol präparierte Alaunerdesäule.

Die Säule wird gewaschen mit:

a) 12 ml eines Gemisches von 1,4% Äthanol in Benzol, das anschliessend verworfen wird.

b) 15 ml eines Gemisches von 2,5% Äthanol in Benzol. Die passierte Lösung enthält den gesamten Oestriol-Methyläther, der gesammelt wird.

Die methylierte Oestron-Oestradiolfraktion im Leichtpetroleum giesst man nun durch eine zweite Alaunerdesäule, die mit Leichtpetroleum präpariert wird. Diese Säule reinigt man mit:

a) 12 ml eines Gemisches von 12% Benzol in Leichtpetroleum, das anschliessend verworfen wird.

b) 15 ml eines Gemisches von 40% Benzol in Leichtpetroleum.

c) Weitere 12 ml desselben Gemisches.
Diese Lösung mit dem ganzen Oestronmethyläther wird sorgfältig aufgefangen.

d) 12 ml Benzol.
Damit löst man den gesamten Oestradiolmethyläther heraus.

## 5. Die quantitative Erfassung der Oestrogene.

a) Verdampfung der Lösungsmittel: Den drei Oestrogenfraktionen werden Quinol (4 mg) in Äthanollösung (0,2 ml von 2% w/v) und ein kleines Stück porösen Ziegels zugefügt. Die Lösungsmittel destilliert man ab und trocknet den Rückstand am Vakuum.

Drei Behälter, die nur Quinol enthalten, werden in gleicher Weise präpariert und dienen später als Vergleichsreagenzien.

b) Färbung: Bei der Färbung werden zunächst die kristallisierten Oestrogene sowie die Testreagenzien mit 3 ml eines jeweilig entsprechenden Quinol-$H_2SO_4$-Reagenz in Lösung gebracht und danach 20 Minuten lang im kochenden Wasserbad erhitzt. Nach der raschen Abkühlung werden dem

76%igen Quinol-$H_2SO_4$-Reagenz ± Oestriol 1 ml aqua dest.,
66%igen Quinol-$H_2SO_4$-Reagenz ± Oestron 0,5 ml aqua dest.,
60%igen Quinol-$H_2SO_4$-Reagenz ± Oestradiol 0,2 ml aqua dest.

beigefügt. Die Gefässe kommen für weitere 10 Minuten ins siedende Wasser. Um

den Färbevorgang zu unterbrechen, muss wieder schnell abgekühlt werden.

c) Messung: Die Messung der gewonnenen Oestrogene wurde mit dem BECKMANN-Quarz-Spektralphotometer durchgeführt, Modell DU.

Die Oestriol- und Oestronfraktion werden bei folgenden Wellenlängen gemessen:

480 mμ 516 mμ 552 mμ

Die Oestradiolfraktion:

480 mμ 518 mμ 556 mμ

d) Auswertung der Extinktionswerte mit Hilfe der bekannten ALLEN'schen Formel:

Die korrigierte Lesart heisst bei Oestriol und Oestron:

$$2\left[D_{516} - (D_{480} + D_{552})\right]$$

Sie lautet für Oestradiol:

$$2\left[D_{518} - (D_{480} + D_{556})\right]$$

D = optische Dichte.

Man setzt die bei den entsprechenden Wellenlängen gewonnenen Werte in diese Formeln ein und berechnet die Extinktion.

Die Menge an Oestrogenmethyläthern findet man nach Eintragung der korrigierten Werte auf eine besondere Standardkurve, die mit reinem Oestrogenmethyläther festgelegt wurde. Die abgelesenen Werte werden dann auf die 24-Stunden-Urinausscheidung umgerechnet.

Eine einzelne Analyse nach BROWN dauert ohne Messung 12 Stunden. Es ist möglich, zwei Analysen nebeneinander durchzuführen, pro Analyse müssen dann 10 Stunden angesetzt werden.

Wiedergewinnungsversuche.

200 ccm eines hormonarmen Urines wurden nach dem BROWN'schen Verfahren analysiert. Dann wurde derselben Menge des gleichen Urines nach der Hydrolyse eine bekannte Menge Reinoestrogen zugesetzt und ebenfalls die Oestrogenbestimmung durchgeführt.

Die Differenz der beiden Versuchsergebnisse bedeutet den Arbeitsverlust. Er betrug bei Zehn Versuchen:

| | Wiedergewonnene Menge in % | Verluste in % |
|---|---|---|
| Oestriol | 79,4 ± 7,9 | 20,6 |
| Oestron | 81,5 ± 7,8 | 18,5 |
| Oestradiol | 76,0 ± 10,2 | 24 |

# DIE OESTROGENAUSSCHEIDUNG IM HARN NACH INJEKTION VERSCHIEDENER OESTRADIOLESTER

## I. Literaturangaben

Für die Therapie ist es wichtig, Hormone so zu verabreichen, dass dadurch eine Nachahmung oder Wiederherstellung des physiologischen Zustandes möglich wird. Eine überschüssige Hormonmenge, parenteral oder oral zugeführt, wird sehr rasch inaktiviert und gebunden oder frei mit Kot und Harn ausgeschieden und sollte deshalb vermieden werden.

BUSCHBECK 15) hat die Tatsache herausgearbeitet, dass ein Mindestspiegel des verabfolgten Hormons eine gewisse Mindestzeit zur Einwirkung kommen muss, damit ein Effekt am Erfolgsorgan nachweisbar ist. Die brauchbarste Form zur parenteralen Anwendung der Oestrogene in der Therapie geht auf BUTENANDT zurück, der die Verzögerung der Resorption durch Verabreichung von Oestrogenestern erstmals vorschlug, wobei infolge der protrahierten Wirkung kontinuierlich kleine Mengen wirksam werden, da die Esterbindung im Organismus nur mehr oder weniger langsam verseift wird.

Durch die Veresterung der Keimdrüsenhormone werden "halbsynthetische" Produkte mit protrahierter Wirkung gewonnen. Oestradiol-3-monobenzoat zeichnet sich durch längere Wirkdauer aus. Durch Anfügen eines Äthinylrestes an $C_{17}$ werden oral gut wirksame Derivate erhalten, z.B. bei Oestradiol.

PROSDOCIMI 41) hat Form, Geschwindigkeit und Prozentsatz des durch die Nieren ausgeschiedenen Oestrogens nach Injektion von natürlichem Oestrogen auf chemischem Wege beobachtet. Die Ausscheidung war "prompt und deutlich und nach 24 bis 28 Stunden komplett". Die Ausscheidung nach Injektion von Oestradioldipropionat verlief "langsamer" und nach Injektion von Dimethylestern war sie "noch mehr verzögert".

BROWN 11) fand nach einmaliger Injektion von 1mg bzw. 2mg natürlichem Oestradiol in sechs Fällen durchschnittlich 22% der Injektionsdosis im Urin wieder. Die Harnoestrogene bestanden durchschnittlich aus 15% Oestradiol, 41% Oestron und 44% Oestriol. Das Ausscheidungsmaximum der Gesamtoestrogene trat am Tag der Injektion auf. Oestron und Oestradiol erreichten das Leerwertniveau nach 2 bis 4 Tagen wieder, Oestriol nach 4 bis 9 Tagen. Seine Ausscheidung hinkte durchschnittlich um etwa 24 Stunden nach.

Nach einer einzigen intramuskulären Injektion von 40 oder 80 mg Poly-ß-Oestradiol-phosphat schieden kastrierte Frauen zwei Tage lang hohe Mengen, anschliessend 4-6 Wochen lang etwa die gleichen Mengen Oestron, ß-Oestradiol und Oestriol aus wie normal menstruierende Frauen 16).

Die schwerlöslichen Benzoate sind für den Organismus schwerer spaltbar als die leichter löslichen. Nach DIRSCHERL und DARDENNE 17), welche die Spal-

tung verschiedener Steroidhormonester durch menschliche und tierische Organhomogenate untersucht haben, werden ß-Oestradiolbenzoat und auch Diäthylstilboestrol-dipropionat durch Leber, Niere usw. viel langsamer als Testosteronpropionat, Desoxycorticosteronacetat und Cortisonacetat gespalten.

Die Wirkdauer von Fettsäureestern natürlicher und synthetischer Oestrogene (ALLEN-DOISY-Test, Uterusgewicht) ist bei einer bestimmten Kettenlänge optimal, Oestradiol-17-ß-n-valerianat ist in bezug auf Intensität und Dauer der Wirkung am günstigsten.

Weitere verwertbare Angaben über die Grösse der Ausscheidung von Oestrogenen nach Injektion von Oestradiolestern wurden von L. BARTH 4) aufgrund einer Reihe diesbezüglicher Untersuchungen gemacht.

Die vorliegende Arbeit befasst sich hauptsächlich mit der Gesamtdauer der erhöhten Ausscheidung nach Injektion verschiedener Oestrogenester.

## II. Eigene Versuche

Den vorliegenden Ergebnissen liegen ca. 100 Urinanalysen nach J.B. BROWN zugrunde. Die jeweils einmaligen Injektionen erhielten 6 Frauen im Alter von 59 bis 77 Jahren, von denen sich 5 in der natürlichen Menopause befanden, davon war eine Frau linksseitig ovariektomiert worden. Bei der 6. Frau war im 41. Lebensjahr die künstliche Menopause herbeigeführt durch eine Entfernung des Uterus und der Adnexe.

Als Ausgangswert wurde vor Versuchsbeginn zwei Tage lang die noch vorhandene körpereigene natürliche Oestrogenausscheidung im 24-Stundenurin ermittelt, die Ovarialfunktion war bei allen diesen Frauen weitgehend erloschen.

Nach der Injektion erfolgte eine Kontrolle der Oestrogenausscheidung jeweils solange, bis die erhöhten Werte wieder ungefähr auf ihr Ausgangsniveau abgesunken waren; das bedeutete eine Untersuchung über mindestens 14 und höchstens 26 Tage.

Die Patientinnen erhielten, solange sie Urin sammelten, keinerlei Medikamente, da diese oft chromogene Substanzen enthalten oder Farbreaktionen während der Analyse ergeben, die die photometrische Messung stören oder unmöglich machen. Bei den Patientinnen, die während eines 3-wöchigen Klinikaufenthaltes keine Medikamente erhielten, handelte es sich um Frauen, die während der Urinuntersuchung in regelmässigen Abständen Bestrahlungen bekamen.

Folgende sechs natürliche Oestradiolester wurden jeweils bei einer Frau geprüft nach einer jeweils einmaligen Injektion.

TABELLE 1

Übersicht über die verwendeten Depotoestrogene

| Chemische Bezeichnung | Applikationsform | Dosis in mg | Handelspräparat und Herstellerfirma |
|---|---|---|---|
| 1) Oestradiolcyclopenthylpropionat | i.m. | 10 | Depofemin Hoechst |
| 2) Oestradiolvalerianat | i.m. | 10 | Progynon-Depot Schering |
| 3) Oestradiolmonobenzoat-Kristallsuspension (0,02-0,1 mm) | i.m. | 10 | Ovocyclin Kristallsuspension =Ovocyclin M Ciba |
| 4) Oestradiolmonobenzoat-Kristallsuspension (>0,05 mm) | i.m. | 10 | Oestrogenanteil im Sistocyclin Ciba |
| 5) 9,0 mg Oestradioloenanthat + 1,0 mg freies Oestradiol | i.m. | 9,0+1,0 | Oestradioloenanthat Böhringer |
| 6) 2,5 mg Oestradiolbenzoat + 10 mg Oestradiolphenylpropionat | i.m. | 2,5+10,0 | Dimenformon prolongatum Organon |

1) Oestradiolcyclopenthylpropionat.
(Siehe S. 41, Abb. 1, Strukturformel S. 39, Nr. 1)

Frau Z.
64 Jahre, 0-para, kein Abortus.
Menopause mit 49 Jahren.
1959 Entfernung des linken Ovarium.

TABELLE 2

Oestrogenausscheidung im 24-Stundenurin in γ nach Injektion von 10 mg Oestradiolcyclopenthylpropionat

| Tage p.i. | Datum | Urin Tagesmenge in ccm | Oestradiol | Oestron | Oestriol | Gesamtoestrogen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 14.1. | 720 | 1 | 3 | 2 | 6 |
| | 18.1. | 1100 | 2 | 3 | 2 | 7 |
| Am 19.1. Injektion von 10 mg Oestradiolcyclopenthylpropionat. | | | | | | |
| 1. | 20.1. | 1100 | 8 | 15 | 6 | 29 |
| 2. | 21.1. | 760 | 15 | 56 | 31 | 102 |
| 3. | 22.1. | 860 | 14 | 70 | 90 | 174 |
| 4. | 23.1. | 1160 | 6 | 38 | 59 | 103 |
| 6. | 25.1. | 1180 | 5 | 33 | 42 | 80 |
| 8. | 27.1. | 940 | 6 | 13 | 32 | 51 |
| 10. | 29.1. | 510 | 3 | 6 | 10 | 19 |
| 12. | 31.1. | 500 | 3 | 3 | 8 | 14 |
| 14. | 2.2. | 800 | 2 | 5 | 3 | 10 |

Bei Frau Z. wurde sofort ein Ansteigen des Gesamtoestrogenspiegels beobachtet. Die höchste Oestradiolausscheidung erfolgte am 2. Tage p.i., die höchste Oestron- und Oestriolausscheidung wurde am 3. Tage p.i. erreicht, die Werte stiegen auf 70γ Oestron und 90γ Oestriol an. Am 3. Tage p.i. traten auch die höchsten Gesamtoestrogenwerte im Urin mit 174γ auf. Danach erfolgte ein langsames Absinken der Werte, das sich auf 13 Tage erstreckte und nach dem 8. Tage p.i. am deutlichsten in Erscheinung trat.

2) Oestradiolvalerianat.

(Siehe S. 41, Abb. 2, Strukturformel S. 39, Nr. 2)

Frau Sch.

62 Jahre, 6 Partus von 1926 bis 1934, kein Abortus.
Menopause mit 45 Jahren.

TABELLE 3

Oestrogenausscheidung im 24-Stundenurin in γ nach Injektion von 10 mg Oestradiolvalerianat

| Tage p.i. | Datum | Urin Tagesmenge in ccm | Oestradiol | Oestron | Oestriol | Gesamtoestrogen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 6.2. | 270 | - | 1 | 2 | 3 |
| | 7.2. | 240 | - | 1 | 4 | 5 |
| Am 8.2. Injektion von 10 mg Oestradiolvalerianat. | | | | | | |
| 2. | | 460 | 9 | 26 | 54 | 89 |
| 4. | | 360 | 12 | 24 | 88 | 124 |
| 6. | | 300 | 7 | 20 | 63 | 90 |
| 8. | | 470 | 3 | 16 | 52 | 71 |
| 10. | | 500 | 2 | 15 | 23 | 40 |
| 13. | | 430 | - | 11 | 12 | 23 |
| 14. | | 560 | 2 | 4 | 5 | 11 |

Die Ausscheidungsmaxima von Oestradiol und Oestriol wurden mit Werten von 12γ und 88γ am 4. Tage p.i. beobachtet, Oestron erreichte sein Maximum schon am 2. Tage p.i. mit 26γ. Die Messung erfolgte hier jeden 2. Tag, das Ausscheidungsmaximum von Oestriol war also dem des Oestron gegenüber um ca. 2 Tage verzögert. Der sprunghafte Anstieg und langsame Abfall ist bei allen drei Oestrogenfraktionen deutlich. Die höchste Gesamtoestrogenausscheidung wurde am 4. Tage p.i. mit 124γ gemessen. Die Ausgangswerte wurden knapp am 14. Tage p.i. wieder erreicht.

3) Oestradiolmonobenzoat-Kristallsuspension (0,02-0,1 mm).
(Siehe S. 42, Abb. 3, Strukturformel S. 39, Nr. 3)

Frau F.
61 Jahre, 1 Partus 1926, 3 Abortus von 1927 bis 1929,
mens III bis VII.
Menopause mit 53 Jahren.

TABELLE 4

Oestrogenausscheidung im 24-Stundenurin in γ nach Injektion von 10 mg Oestradiolmonobenzoat-Kristallsuspension (0,02-0,1 mm)

| Tage p.i. | Datum | Urin Tagesmenge in ccm | Oestradiol | Oestron | Oestriol | Gesamtoestrogen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 8.3. | 1370 | 1 | 1 | 2 | 4 |
| | 9.3. | 980 | 2 | 1 | 1 | 4 |
| Am 11.3. Injektion von 10 mg Oestradiolmonobenzoat-Kristallsuspension (0,02-0,1 mm). | | | | | | |
| 1. | 12.3. | 840 | 2 | 9 | 6 | 17 |
| 2. | 13.3. | 780 | 6 | 33 | 25 | 64 |
| 4. | 15.3. | 630 | 5 | 28 | 26 | 59 |
| 6. | 17.3. | 350 | 4 | 13 | 15 | 32 |
| 10. | 21.3. | 820 | 2 | 10 | 8 | 20 |
| 12. | 23.3. | 790 | 2 | 8 | 6 | 16 |
| 16. | 27.3. | 760 | - | 4 | 6 | 10 |
| 19. | 30.3. | 1050 | - | 3 | 2 | 5 |

Die Gesamtoestrogenausscheidung erreichte bei Frau F. am 2. Tage p.i. sein Maximum mit 64γ, um wieder gleichmässig abzufallen bis zu den Ausgangswerten, die am 19. Tage erreicht wurden. Die Oestron- und Oestradiolausscheidungswerte fielen nach ihren ebenfalls am 2. Tage p.i. gemessenen Maxima von 33γ bzw. 6γ langsam wieder ab. Die Oestriolausscheidung hatte ihren Gipfelpunkt äm 4. Tage p.i. mit 26γ, sie hinkte also wieder um 2 Tage nach.

4) Oestradiolmonobenzoat-Kristallsuspension(>0,05 mm).
(Siehe S. 42, Abb. 4, Strukturformel S. 40, Nr. 4)

Frau L.
69 Jahre, 1 Partus 1913, kein Abortus.
Menopause mit 41 Jahren künstlich, supravaginale Uterusamputation 1932.

TABELLE 5

Oestrogenausscheidung im 24-Stundenurin in γ nach Injektion von 10 mg Oestradiolmonobenzoat-Kristallsuspension (>0,05 mm)

| Tage p.i. | Datum | Urin Tagesmenge in ccm | Oestradiol | Oestron | Oestriol | Gesamtoestrogen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 9.4. | 970 | - | 4 | 4 | 8 |
| | 10.4. | 560 | - | 4 | 6 | 10 |
| Am 15.4. Injektion von 10 mg Oestradiolmonobenzoat-Kristallsuspension (>0,05 mm) | | | | | | |
| 1. | 16.4. | 1270 | 5 | 13 | 10 | 28 |
| 2. | 17.4. | 810 | 10 | 115 | 41 | 166 |
| 4. | 19.4. | 810 | 7 | 42 | 24 | 83 |
| 6. | 21.4. | 830 | 7 | 14 | 92 | 103 |
| 8. | 23.4. | 1180 | 6 | 16 | 49 | 71 |
| 10. | 25.4. | 1410 | 17 | 10 | 23 | 50 |
| 12. | 27.4. | 1210 | 2 | 9 | 20 | 31 |
| 14. | 29.4. | 1218 | 2 | 9 | 12 | 23 |
| 16. | 1.5. | 1220 | 1 | 6 | 5 | 12 |
| 20. | 5.5. | 780 | 2 | 4 | 5 | 11 |

Die Gesamtoestrogenkurve und die Oestriolausscheidungskurve zeigten beide zwei Gipfel und zwar am 2. und 6. Tage p.i. Die Gesamtoestrogenkurve erreichte ihr Maximum am 2. Tage p.i. mit 166γ und fiel nach einem zweiten Gipfel von 103γ am 6. Tage p.i. langsam und stetig ab, um am 20. Tag p.i. wieder auf die Ausgangswerte der Gesamtoestrogene zurückzukehren. Das Maximum der Oestron- und Oestradiolausscheidung mit 115γ bzw. 10γ fiel auf den 2. Tag p.i., wobei der Oestronwert sprunghaft in die Höhe schnellte und zwei Tage später schon wieder auf 24γ abgesunken war. Das Maximum der Oestriolausscheidung von 92γ am 6. Tage p.i. hinkte auch hier wieder um 4 Tage dem Maximum der Oestronausscheidung nach.

5) 9,0 mg Oestradioleonanthat + 1,0 mg freies Oestradiol.
(Siehe S. 43, Abb. 5, Strukturformel S. 40, Nr. 5)

Frau M.
77 Jahre, 0-para, kein Abortus.
Menopause mit 50 Jahren.

TABELLE 6

Oestrogenausscheidung im 24-Stundenurin in γ nach Injektion von 9,0 mg Oestradioloenanthat + 1,0 mg freies Oestradiol

| Tage p.i. | Datum | Urin Tagesmenge in ccm | Oestradiol | Oestron | Oestriol | Gesamtoestrogen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 8.3. | 320 | 1 | 2 | 2 | 5 |
| | 9.3. | 390 | 1 | 2 | 2 | 5 |
| Am 13.3. Injektion von 9,0 mg Oestradioloenanthat + 1,0 mg freies Oestradiol. | | | | | | |
| 1. | 14.3. | 310 | 11 | 29 | 56 | 96 |
| 3. | 16.3. | 590 | 7 | 18 | 45 | 70 |
| 5. | 18.3. | 570 | 8 | 23 | 25 | 56 |
| 7. | 20.3. | 670 | 2 | 8 | 15 | 25 |
| 10. | 23.3. | 360 | 1 | 5 | 15 | 21 |
| 13. | 26.3. | 370 | - | 5 | 7 | 12 |
| 15. | 28.3. | 340 | 1 | 3 | 9 | 13 |
| 17. | 30.3. | 260 | - | 3 | 5 | 8 |
| 19. | 1.4. | 930 | - | 2 | 6 | 8 |
| 22. | 4.4. | 430 | - | 2 | 11 | 13 |
| 26. | 8.4. | 600 | - | 2 | 4 | 6 |

Bei der Injektion von Oestradioloenanthat + freiem Oestradiol wurden die Maximalwerte aller drei Oestrogenfraktionen am 1. Tag p.i. gemessen. Die Gesamtoestrogenausscheidung lag also mit 96γ gleich am 1. Tag p.i. am höchsten, der Abfall erfolgte dann langsam bis zum 26. Tag, an dem die Ausgangswerte wieder erreicht wurden. Am 22. Tage p.i. wurde die letzte erhöhte Gesamtoestrogenausscheidung mit 13γ gemessen.

6) 2,5 mg Oestradiolmonobenzoat + 10 mg Oestradiolphenylpropionat.

(Siehe S. 43, Abb. 6, Strukturformel S. 40, Nr. 6)

Frau I.

59 Jahre, 4 Partus von 1923 bis 1929, kein Abortus.
Menopause mit 47 Jahren.

TABELLE 7

Oestrogenausscheidung im 24-Stundenurin in γ nach Injektion von 2,5 mg Oestradiolmonobenzoat + 10 mg Oestradiolphenylpropionat

| Tage p.i. | Datum | Urin Tagesmenge in ccm | Oestradiol | Oestron | Oestriol | Gesamtoestrogen |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 25.3. | 1100 | 2 | 4 | 1 | 7 |
| | 28.3. | 690 | 2 | 4 | 3 | 9 |
| Am 31.3. Injektion von 2,5 mg Oestradiolmonobenzoat + 10 mg Oestradiolphenylpropionat. | | | | | | |
| 1. | 1.4. | 780 | 10 | 22 | 8 | 40 |
| 2. | 2.4. | 620 | 19 | 56 | 57 | 132 |
| 4. | 4.4. | 1240 | 10 | 52 | 87 | 149 |
| 6. | 6.4. | 460 | 11 | 47 | 48 | 106 |
| 8. | 8.4. | 860 | 5 | 18 | 77 | 100 |
| 10. | 10.4. | 900 | 2 | 14 | 31 | 47 |
| 12. | 12.4. | 1010 | 1 | 10 | 18 | 29 |
| 14. | 14.4. | 1250 | 1 | 5 | 12 | 18 |
| 16. | 16.4. | 1180 | 1 | 5 | 7 | 13 |
| 18. | 18.4. | 980 | 1 | 3 | 4 | 8 |

Das Maximum der Gesamtoestrogenausscheidung zwischen 132γ und 149γ lag zwischen dem 2. und 4. Tag p.i. Auf das Maximum folgte ein steter langsamer Abfall der Gesamtoestrogenwerte bis zum 18. Tag p.i., an dem sie wieder bis auf die Ausgangswerte abgefallen waren. Die Höchstwerte von Oestron und Oestradiol von 56γ bzw. 19γ waren am 2. Tag p.i. vorhanden, der Höchstwert des Oestriol von 87γ fiel wieder 2 Tage später auf den 4. Tag p.i. und damit auf den Tag der höchsten Gesamtoestrogenausscheidung. Die Oestriolausscheidung zeigte lediglich am 8. Tag p.i. nochmal einen kurzen Anstieg auf 77γ.

## DISKUSSION DER ERGEBNISSE

Sechs verschiedene Oestradiolester wurden bezüglich Höhe und Dauer der Oestrogenausscheidung im Harn geprüft. Die quantitative Erfassung der drei Oestrogenfraktionen Oestradiol, Oestron und Oestriol und ihr Verhältnis untereinander gestattet dabei Rückschlüsse auf das Verhalten der Oestrogene im Organismus. Die Ergebnisse der Versuche, die auch den Tabellen und den Diagrammen zu entnehmen sind, lassen folgendes erkennen:

### 1) Oestradiolcyclopenthylpropionat.

Nach Injektion von 10 mg Oestradiolcyclopenthylpropionat wurden Oestrogene bis zum 3. Tage p.i. in ansteigender Menge ausgeschieden. Hier lag das Maximum mit 174γ Gesamtoestrogen, das ist das 25fache des Ausgangswertes, dann folgte der langsame Abfall über 13 Tage. Die Ausscheidung aller drei Fraktionen lag 8 Tage lang höher als die durchschnittlichen Zykluswerte (Gesamtoestrogen ca. 30γ), sie erreichte am 3. Tage p.i. mit 174 γ ungefähr die Höhe der Ausscheidungswerte in der 5. Schwangerschaftswoche.

Die Dauer der Oestrogenerhöhung erstreckte sich über insgesamt 13 Tage. Die Konzentration nahm langsam ab, ein kontinuierlicher Titer war nicht gewährleistet. Um einen Zyklus zu substituieren, müsste man ungefähr alle 8 Tage 5 mg Oestradiolcyclopenthylpropionat injizieren. Es handelt sich hier wie in allen folgenden Fällen also um Oestradiolester, die erst nach einer ca. zweitägigen Anlaufsfrist voll im Organismus freigegeben werden. Das Verhältnis Oestradiol : Oestron : Oestriol betrug 11 : 41 : 48, ähnlich wie es BROWN nach Injektion von reinem Oestradiol fand. Aufgrund der vorhandenen Werte wurde die Gesamtmenge der ausgeschiedenen Oestrogene auf 700γ geschätzt, das bedeutet eine prozentuale Ausbeute von ca. 7% der Injektionsdosis. Der Tagesdurchschnitt betrug ungefähr 65γ.

### 2) Oestradiolvalerianat.

Nach Injektion von 10 mg Oestradiolvalerianat wurden Oestrogene bis zum 4. Tage p.i. in ansteigender Menge ausgeschieden. Hier lag das Maximum mit 124γ Gesamtoestrogen, das ist das 31fache des Ausgangswertes, dann folgte der langsame Abfall über 14 Tage. Die Ausscheidung aller drei Fraktionen lag 11 Tage lang höher als die durchschnittlichen Zykluswerte mit ca. 30γ, sie erreichte am 4. Tage p.i. mit 124γ ungefähr die Höhe der Ausscheidungswerte zu Beginn des 2. Schwangerschaftsmonats.

Die Dauer der Oestrogenerhöhung erstreckte sich über insgesamt 14 Tage. Die Konzentration nahm langsam ab, ein kontinuierlicher Titer war nicht gewährleistet. Um einen Zyklus zu substituieren, müsste man wieder ca. alle 7 Tage 5 mg Oestradiolvalerianat injizieren. Das Verhältnis Oestradiol : Oestron : Oestriol betrug 8 : 28 : 64. Aufgrund der vorhandenen Werte wurde die Gesamtmenge

der ausgeschiedenen Oestrogene auf 800γ geschätzt, das bedeutet eine prozentuale Ausbeute von ca. 8% der Injektionsdosis. Der Tagesdurchschnitt betrug ungefähr 64γ.

3) Oestradiolmonobenzoat-Kristallsuspension (0,02-0,1 mm).

Nach Injektion von 10 mg Oestradiolmonobenzoat-Kristallsuspension (0,02-0,1 mm) wurden Oestrogene bis zum 2. Tage p.i. in ansteigender Menge ausgeschieden. Hier lag das Maximum mit 64γ Gesamtoestrogen, das ist das 16-fache des Ausgangswertes, dann folgte der langsame Abfall über 19 Tage. Die Ausscheidung aller drei Fraktionen lag 6 Tage lang höher als die durchschnittlichen Zykluswerte mit ca. 30γ, sie erreichte am 2. Tage p.i. mit 64γ knapp die Höhe der Ausscheidungswerte zu Beginn des 2. Schwangerschaftsmonats.

Die Dauer der Oestrogenerhöhung erstreckte sich über insgesamt 16 Tage. Die Konzentration nahm langsam ab, ein kontinuierlicher Titer war auch hier nicht gewährleistet. Um einen Zyklus zu substituieren, müsste man ungefähr alle 10 Tage 10 mg Oestradiolmonobenzoat-Kristallsuspension (0,02-0,1 mm) injizieren. Das Verhältnis Oestradiol : Oestron : Oestriol betrug 10 : 48 : 42, ähnlich wie es BROWN nach Injektion von reinem Oestradiol fand. Aufgrund der vorhandenen Werte wurde die Gesamtmenge der ausgeschiedenen Oestrogene auf 400γ geschätzt, das bedeutet eine prozentuale Ausbeute von ca. 4% der Injektionsdosis. Der Tagesdurchschnitt betrug ungefähr 31γ.

4) Oestradiolmonobenzoat-Kristallsuspension (>0,05 mm).

Nach Injektion von 10 mg Oestradiolmonobenzoat-Kristallsuspension (>0,05 mm) wurden Oestrogene bis zum 2. Tage p.i. in ansteigender Menge ausgeschieden. Hier lag das Maximum mit 166γ Gesamtoestrogen, das ist das 19fache des Ausgangswertes. Dann folgte ein langsamer Abfall über 20 Tage unterbrochen von einem zweiten Gipfel am 6. Tag p.i. Die Ausscheidung aller drei Fraktionen lag 12 Tage lang höher als die durchschnittlichen Zykluswerte mit ~30γ, sie erreichte am 2. Tage p.i. mit 166γ ungefähr die Höhe der Ausscheidungswerte der 6. Schwangerschaftswoche. Die Oestriolausscheidung p.i. belief sich nur auf 1/5 der Oestriolausscheidung in der Schwangerschaft. Die Dauer der Oestrogenerhöhung erstreckte sich über insgesamt 16 Tage. Die Konzentration nahm langsam ab mit Unterbrechung am 6. Tage p.i., an dem nochmal erhöhte Werte gemessen wurden.

Um einen Zyklus zu substituieren, müsste man ungefähr alle 7 Tage 5 mg Oestradiolmonobenzoat-Kristallsuspension (>0,05 mm) injizieren. Das Verhältnis Oestradiol : Oestron : Oestriol betrug 10 : 41 : 49, ähnlich wie es BROWN nach Injektion von reinem Oestradiol fand. Aufgrund der vorhandenen Werte wurde die Gesamtmenge der ausgeschiedenen Oestrogene auf 800γ geschätzt, das bedeutet eine prozentuale Ausbeute von 8% der Injektionsdosis. Der Tagesdurchschnitt betrug ungefähr 63γ.

5) 9,0 mg Oestradioloenanthat + 1,0 mg freies Oestradiol.

Nach Injektion von 9,0 mg Oestradioloenanthat + 1,0 mg freies Oestradiol wurden Oestrogene gleich am 1. Tage p.i. in höchster Menge ausgeschieden. Hier lag das Maximum mit 96γ Gesamtoestrogen, das ist das 19fache des Ausgangswertes, dann folgte der langsame Abfall über 26 Tage. Die Ausscheidung aller drei Fraktionen lag 6 Tage lang höher als die durchschnittlichen Zykluswerte mit ~30γ, sie erreichte am 1. Tage p.i. mit 96γ ziemlich genau die Höhe der Ausscheidungswerte zu Beginn des 2. Schwangerschaftsmonats.

Die Dauer der Oestrogenerhöhung erstreckte sich über insgesamt 24 Tage. Die Konzentration nahm langsam ab, ein kontinuierlicher Titer war nicht gewährleistet. Um einen Zyklus zu substituieren, müsste man ungefähr alle 10 Tage 10 mg vom Gemisch 9,0 mg Oestradioloenanthat + 1,0 mg freies Oestradiol injizieren. Die Verweildauer wäre dann allerdings wesentlich länger als im Zyklus. Das Verhältnis Oestradiol : Oestron : Oestriol betrug 9 : 30 : 61. Aufgrund der vorhandenen Werte wurde die Gesamtmenge der ausgeschiedenen Oestrogene auf 500γ geschätzt, das bedeutet eine prozentuale Ausbeute von ca. 5% der Injektionsdosis. Der Tagesdurchschnitt betrug ungefähr 32γ.

6) 2,5 mg Oestradiolmonobenzoat + 10 mg Oestradiolphenylpropionat.

Nach Injektion von 2,5 mg Oestradiolmonobenzoat + 10 mg Oestradiolphenylpropionat wurden Oestrogene bis zum 4. Tage p.i. in ansteigender Menge ausgeschieden. Hier lag das Maximum mit 149γ Gesamtoestrogen, das ist das 19fache des Ausgangswertes, dann folgte der langsame Abfall über 18 Tage. Die Ausscheidung aller drei Fraktionen lag 11 Tage lang höher als die durchschnittlichen Zykluswerte mit ca. 30γ, sie erreichte vom 2. bis 4. Tage p.i. mit durchschnittlich 140γ ungefähr die Höhe der Ausscheidungswerte in der 5. Schwangerschaftswoche.

Die Dauer der Oestrogenerhöhung erstreckte sich über insgesamt 16 Tage. Die Konzentration nahm langsam ab, ein kontinuierlicher Titer war nicht gewährleistet. Um einen Zyklus zu substituieren, müsste man ungefähr alle 8 Tage 5 mg Oestradiolphenylpropionat + 1 mg Oestradiolmonobenzoat injizieren. Das Verhältnis Oestradiol : Oestron : Oestiol betrug 10 : 36 : 54, ähnlich wie es BROWN nach Injektion von reinem Oestradiol fand. Aufgrund der vorhandenen Werte wurde die Gesamtmenge der ausgeschiedenen Oestrogene auf 1000 geschätzt, das bedeutet eine prozentuale Ausbeute von ca. 8% der Injektionsdosis. Der Tagesdurchschnitt betrug ungefähr 70γ.

Diese Untersuchungen bestätigen die Vermutung, dass bei den ölgelösten Estern ein spät auftretendes Maximum der Ausscheidungswerte im Urin im allgemeinen auf einen langsameren Abbau und eine längere Wirkungsdauer schliessen lassen. (Tabelle 8). Die längste Wirkungsdauer hat das Gemisch Oestradioloenanthat/freies Oestradiol; sein frühes Maximum bereits am 1. Tage p.i. wird

durch das beigefügte reine Oestradiol ausgelöst. Bei Oestradiolcyclopenthylpropionat mit der kürzesten Wirkungsdauer von 13 Tagen wird das Maximum der Ausscheidungswerte am 3. Tage p.i. erreicht. Bei den Kristallsuspensionen mit je 16 Tagen Wirkungsdauer werden die Maximalwerte jeweils am 2. Tage p.i. gemessen.

TABELLE 8

Die Verweildauer eines Oestrogenesters und der Zeitpunkt der maximalen Oestrogenausscheidung

| Oestradiolester | Wirkungsdauer in Tagen | Zeitpunkt des Maximums in Tagen p.i. |
|---|---|---|
| Oestradiolcyclopenthylpropionat | 13 | 3. |
| Oestradiolvalerianat | 14 | 4. |
| Oestradiolmonobenzoat (Kristallsuspension) (0,02-0,1 mm) | 16 | 2. |
| Oestradiolmonobenzoat (Kristallsuspension) (> 0,05 mm) | 16 | 2. |
| Oestradioloenanthat + freies Oestradiol | 24 | 1. |
| Oestradiolmonobenzoat + Oestradiolphenylpropionat | 16 | 4. |

Es lassen sich im allgemeinen gewisse Beziehungen zwischen der prozentualen Ausscheidungsquote und der Verweildauer erkennen, beispielsweise ist eine hohe Ausscheidungsquote der Injektionsdosis eher mit einer kurzen Wirkungsdauer gekoppelt und umgekehrt. Das Gemisch Oestradioloenanthat/freies Oestradiol und die Oestradiolmonobenzoat-Kristallsuspension mit grossen Kristallen und langer Wirkungsdauer zeigen z.B. eine geringere prozentuale Ausbeute und im Gegensatz dazu ergibt sich bei Oestradiolcyclopenthylpropionat mit kürzerer Wirkungsdauer eine grössere Ausbeute.

Beziehungen bestehen auch noch:

1) Zwischen dem Durchschnittstageswert und dem Ausscheidungsmaximum,
2) zwischen der prozentualen Ausscheidungsquote und dem Ausscheidungsmaximum.

Ad 1) Bei einem hohen Ausscheidungsmaximum sind auch die übrigen Werte und damit auch der Tagesdurchschnitt relativ höher als bei niedrigem Ausscheidungsmaximum.

Ad 2) Hohe Maxima der Ausscheidungswerte gehen auch mit einer grösseren prozentualen Ausbeute bei geringer Wirkungsdauer einher (Tabelle 9).

TABELLE 9

Prozentuale Ausbeute, Oestrogenmaximum und Tagesdurchschnitt der Oestrogenausscheidung nach Injektion von Oestradiolestern

| Oestradiolester | Dosis mg | Prozentuale Ausbeute | Gesamtoestrogenmaxima (γ) | Tagesdurchschnitte (γ) |
|---|---|---|---|---|
| Oestradiolcyclopenthylpropionat | 10 | 7 | 174 | 65 |
| Oestradiolvalerianat | 10 | 8 | 124 | 64 |
| Oestradiolmonobenzoat (Kristallsuspension) (0,02-0,1 mm) | 10 | 4 | 64 | 31 |
| Oestradiolmonobenzoat (Kristallsuspension) (>0,05 mm) | 10 | 8 | 166 | 63 |
| Oestradioloenanthat + freies Oestradiol | 9+1 | 5 | 96 | 32 |
| Oestradiolmonobenzoat + Oestradiolphenylpropionat | 2,5+10 | 8 | 149 | 70 |

In fünf Fällen hinkte die Oestriolausscheidung hinter der Oestradiol- und Oestronausscheidung nach. Nur bei der Versuchsreihe mit dem Gemisch Oestradioloenanthat + freies Oestradiol traten alle Maxima am 1. Tage p.i. auf. In vier Fällen wurden die jeweiligen Oestronmaxima von den Oestriolmaxima übertroffen, in zwei Fällen waren die Oestronmaxima höher (Tabelle 11).

## ZUSAMMENFASSUNG

Im allgemeinen Teil der Arbeit wurde ein kurzer Überblick über den heutigen Stand der Oestrogenforschung unter besonderer Berücksichtigung des Oestrogenmetabolismus gegeben.

Im methodischen Teil erfolgte vor allem eine Beschreibung des angewandten Verfahrens nach J.B. BROWN zur getrennten Extraktion und Bestimmung der drei Oestrogenfraktionen Oestradiol, Oestron und Oestriol.

Im speziellen Teil wurden zunächst anhand von Literaturangaben die bisherigen Ergebnisse anderer Autoren über die Fragestellung besprochen.

Die eigenen Untersuchungen befassten sich mit dem Abbau von 6 verschiedenen Oestradiolestern bei 6 Frauen, die keine Ovarialfunktion mehr hatten.

1) Oestradiolcyclopenthylpropionat zeigte in einer Dosis von 10 mg eine Verweildauer im Organismus von 13 Tagen. Die Ausscheidung der Gesamtoestrogene im Harn betrug 700γ, die prozentuale Ausbeute 7%. Oestradiol : Oestron : Oestriol verhielten sich zueinander wie 11 : 41 : 48.

2) Oestradiolvalerianat zeigte in einer Dosis von 10 mg eine Verweildauer im Organismus von 14 Tagen. Die Ausscheidung der Gesamtoestrogene im Harn betrug 800γ, die prozentuale Ausbeute 8%. Oestradiol : Oestron : Oestriol verhielten sich zueinander wie 8 : 28 : 64.

3) Oestradiolmonobenzoat-Kristallsuspension (0,02-0,1 mm) zeigte in einer Dosis von 10 mg eine Verweildauer im Organismus von 16 Tagen. Die Ausscheidung der Gesamtoestrogene im Harn betrug 400γ, die prozentuale Ausbeute 4%. Oestradiol : Oestron : Oestriol verhielten sich zueinander wie 10 : 48 : 42.

4) Oestradiolmonobenzoat-Kristallsuspension (>0,05 mm) zeigte in einer Dosis von 10 mg eine Verweildauer im Organismus von 16 Tagen. Die Ausscheidung der Gesamtoestrogene im Harn betrug 800γ, die prozentuale Ausbeute 8%. Oestradiol : Oestron : Oestriol verhielten sich zueinander wie 10 : 41 : 49.

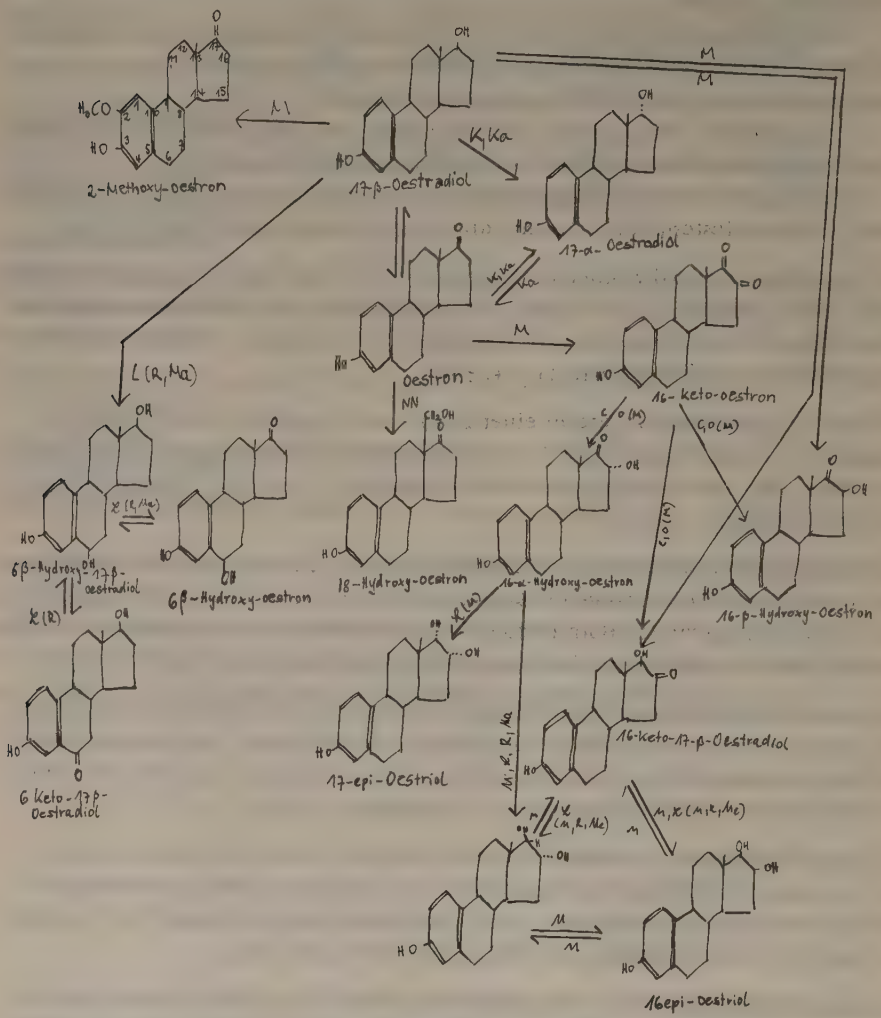
5) Oestradioloenanthat + freies Oestradiol zeigten in einer Dosis von 9,0 mg + 1,0 mg eine Verweildauer im Organismus von 24 Tagen. Die Ausscheidung der Gesamtoestrogene im Harn betrug 500γ, die prozentuale Ausbeute 5%. Oestradiol : Oestron : Oestriol verhielten sich zueinander wie 9 : 30 : 61.

6) Oestradiolmonobenzoat + Oestradiolphenylpropionat zeigten in einer Dosis von 2,5 mg + 10 mg eine Verweildauer im Organismus von 16 Tagen. Die Ausscheidung der Gesamtoestrogene im Harn betrug 1000γ, die prozentuale Ausbeute 8%. Oestradiol : Oestron : Oestriol verhielten sich zueinander wie 10 : 36 : 54.

Alle Ester zeigten ein frühes Ausscheidungsmaximum zwischen dem 1. und 4. Tag p.i. Die Ausscheidung war innerhalb der ersten Woche im allgemeinen relativ hoch, um dann langsam abzusinken. Um zyklusähnliche Verhältnisse zu

erhalten, müssen die meisten Ester mit Ausnahme der langwirkenden Oenanthsäureesters ca. alle 7 - 8 Tage in einer Dosis von 5 mg injiziert werden.

DER STOFFWECHSEL DER OESTROGENE (nach Ammon und Dirscherl).




Zeichenerklärung:

Spezies: M : Mensch, Ma : Maus, Me : Meerschweinchen, K : Kaninchen, Ka : Kalb, O : Ochse, R : Ratte.

Organe: L : Leber, O : Ovar, NN : Nebennieren.

TABELLE 10

Zeitpunkt und Höhe der Oestrogenmaxima nach Injektion von Oestradiolestern

| Bezeichnung des Präparates | Oestradiol-maximum (γ) | Tag p.i. | Oestron-maximum (γ) | Tag p.i. | Oestriol-maximum (γ) | Tag p.i. | Gesamtoestrogenmaximum (γ) | Tag p.i. |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Oestradiolcyclopenthylpropionat 10 mg | 15 | 2. | 70 | 3. | 90 | 3. | 174 | 3. |
| Oestradiolvalerianat 10 mg | 12 | 4. | 26 | 2. | 88 | 4. | 124 | 4. |
| Oestradiolmonobenzoat Kristallsuspension (0,02-0,1 mm) 10 mg | 6 | 2. | 33 | 2. | 26 | 3. | 64 | 2. |
| Oestradiolmonobenzoat Kristallsuspension (> 0,05 mm) 10 mg | 11 | 1. | 29 | 1. | 56 | 1. | 96 | 1. |
| Oestradioloenanthat 9,0 g + freies Oestradiol 1,0 mg | 19 | 2. | 56 | 2. | 87 | 4. | 149 | 4. |
| Oestradiolphenylpropionat 10 mg + Oestradiolmonobenzoat 2,5 mg | 10 | 2. | 115 | 2. | 92 | 6. | 166 | 2. |

TABELLE 11

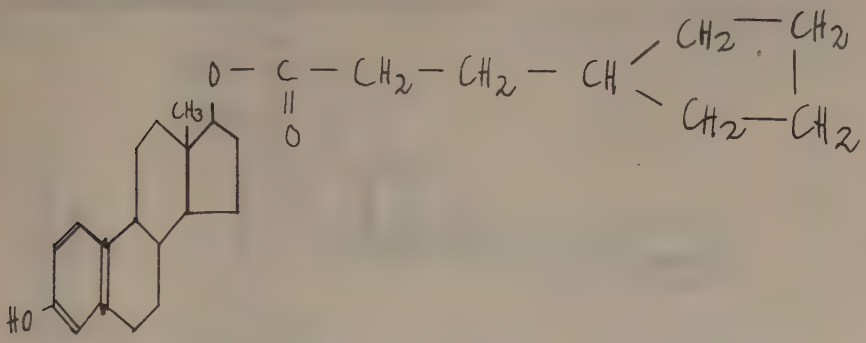
Die Ergebnisse von Oestrogenbestimmungen nach Injektion von Oestradiolestern

| Oestrogen | Dosis (mg) | Oestrogenausscheidung | | | Prozentualer Anteil der Oestrogenfraktion | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Gesamtmenge in γ (x) | Verweildauer in Tagen | Prozentuale Ausbeute | Oestradiol | Oestron | Oestriol |
| Oestradiolcyclopenthylpropionat | 10.0 | 700 | 13 | 7 | 11 | 41 | 48 |
| Oestradiolvalerianat | 10.0 | 800 | 14 | 8 | 8 | 28 | 64 |
| Oestradiolmonobenzoat (Kristallsuspension) (0,02-0,1 mm) | 10.0 | 400 | 16 | 4 | 10 | 48 | 42 |
| Oestradiolmonobenzoat (Kristallsuspension) (> 0,05 mm) | 10.0 | 500 | 24 | 5 | 9 | 30 | 61 |
| Oestradioloenanthat + freies Oestradiol | 9+1.0 | 1000 | 16 | 8 | 10 | 36 | 54 |
| Oestradiolphenylpropionat + Oestradiolmonobenzoat | 10.0 +2.5 | 800 | 16 | 8 | 10 | 41 | 49 |

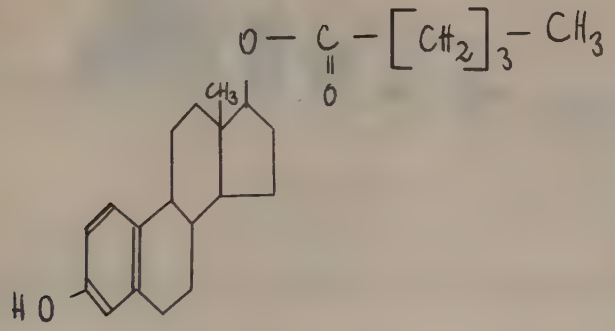
x geschätzt aufgrund der vorhandenen Werte

## DIE CHEMISCHEN FORMELN DER OESTRADIOL-ESTER

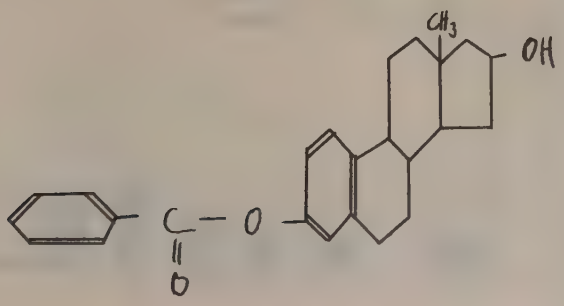
1) Oestradiolcyclopenthylpropionat



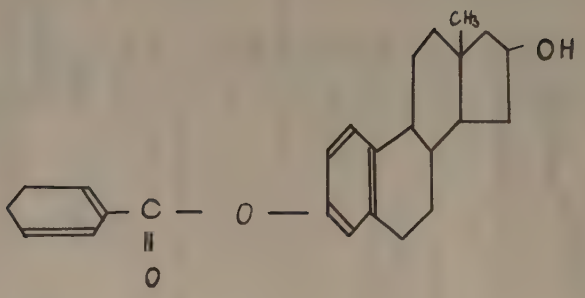
2) Oestradiolvalerianat



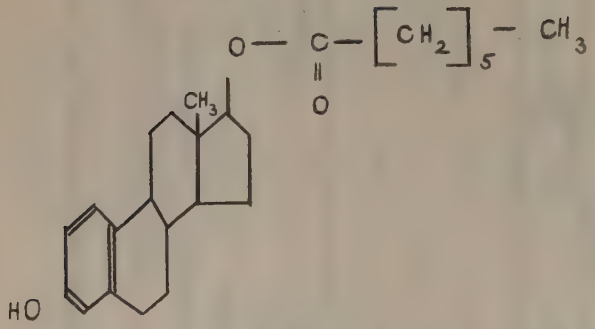
3) Oestradiolmonobenzoat
(Kristallsuspension) (0,02 - 0,1 mm)



4) Oestrodiolmonobenzoat
(Kristallsuspension) (> 0,05 mm)



5) Oestradioloenanthat + freies Oestradiol



6) Oestradiolphenylpropionat + Oestradiolmonobenzoat

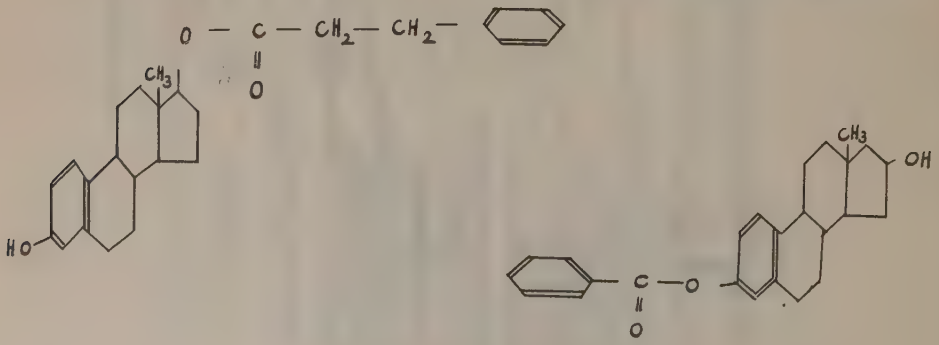


ABBILDUNG 1

Frau Z., 64 Jahre.

Die Oestrogenausscheidung nach Injektion von 10 mg Oestradiolcyclopenthylpropionat.

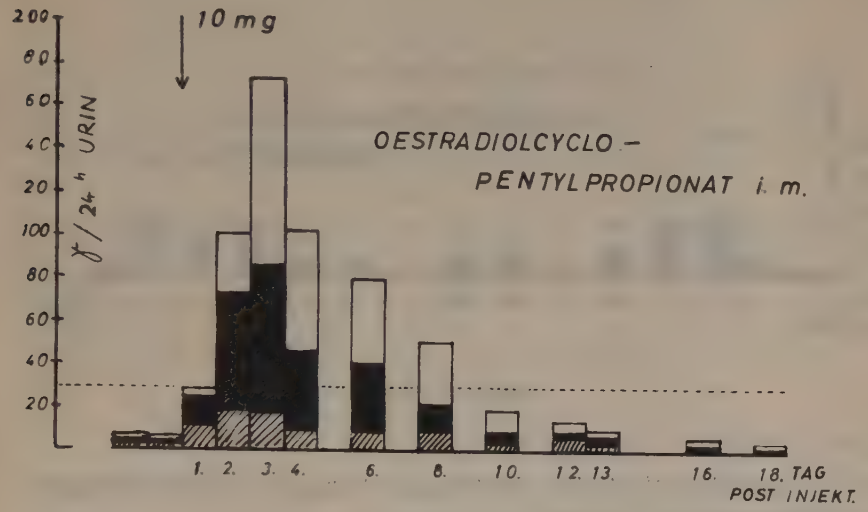



ABBILDUNG 2

Frau Sch., 62 Jahre.

Die Oestrogenausscheidung nach Injektion von 10 mg Oestradiolvalerianat.

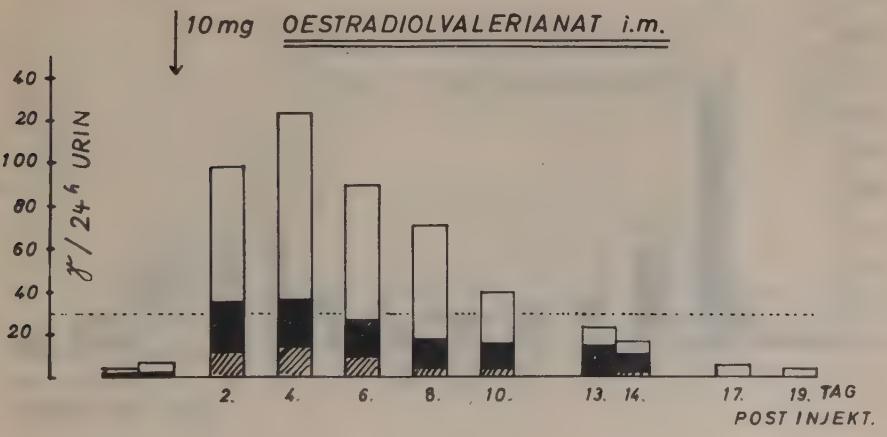


ABBILDUNG 3

Frau F., 61 Jahre.

Die Oestrogenausscheidung nach Injektion von 10 mg Oestradiolmonobenzoat-Kristallsuspension (0,02-0,1 mm).

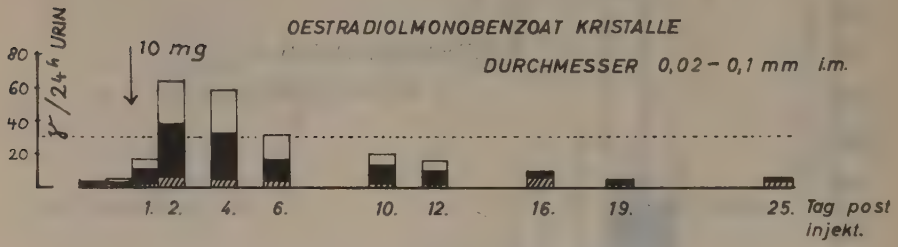



ABBILDUNG 4

Frau L., 69 Jahre.

Die Oestrogenausscheidung nach Injektion von 10 mg Oestradiolmonobenzoat-Kristallsuspension (> 0,05 mm).

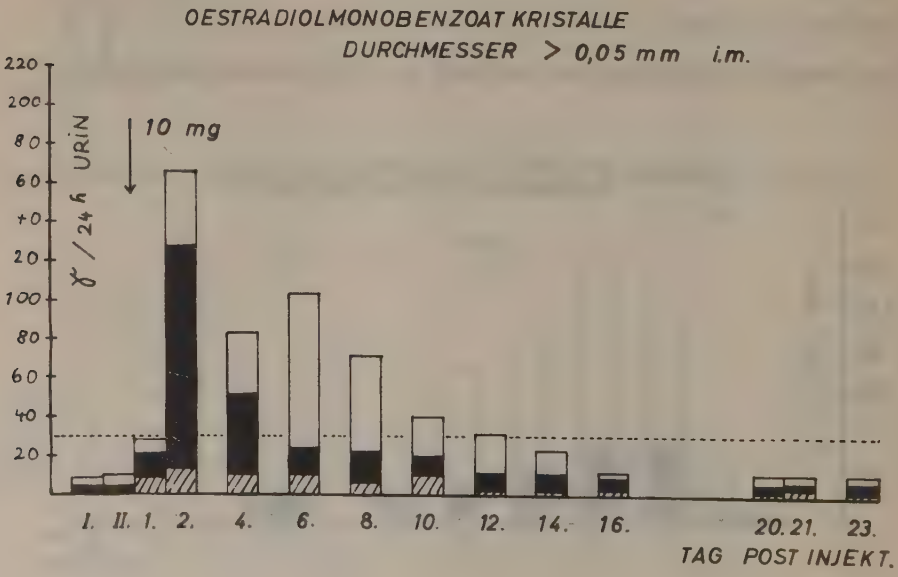


ABBILDUNG 5

Frau M., 77 Jahre.

Die Oestrogenausscheidung nach Injektion von 9,0 mg Oestradioloenanthat + 1,0 mg freies Oestradiol.

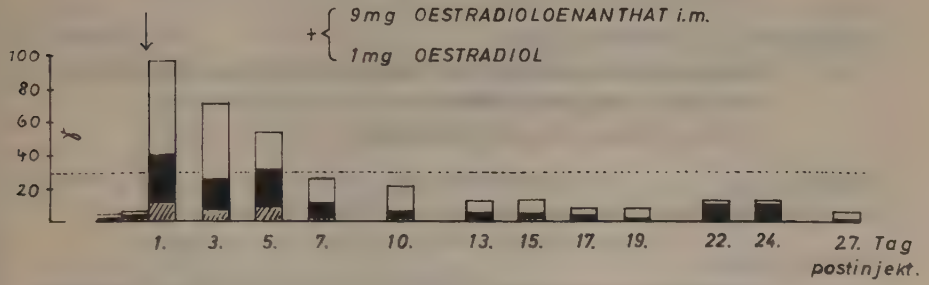
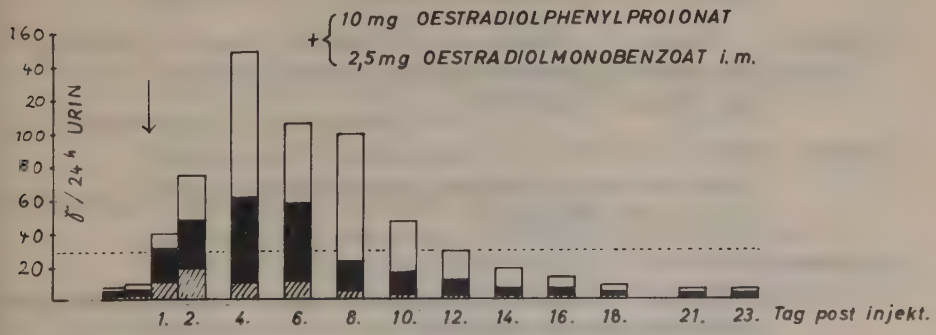



ABBILDUNG 6

Frau I., 59 Jahre.

Die Oestrogenausscheidung nach Injektion von 10 mg Oestradiolphenylpropionat + 2,5 mg Oestradiolmonobenzoat.



## LITERATURVERZEICHNIS


1) Allen, E. und Doisy, E.A.:
Zit. n. Ammon-Dirscherl "Fermente, Hormone, Vitamine" S. 320, Leipzig (1948) / J. Amer. Med. Assoc. 81, 819 (1923).

2) Ammon, R. und Dirscherl, W.:
"Fermente, Hormone, Vitamine", Band II: Hormone, Thieme Verlag 1960

3) Bachmann, G. und Pettit, D.S.:
Photometric determination of estrogens, procedure for estination of estrogens of pregnancy urine.
J. Biol. Chem. 138, 689-704 (1941)

4) Barth, L.:
Diss. med. München 1961

5) Bauld, W.S.:
Separation of oestrogens in urinary extracts by partition chromatography.
Biochem. J. 59, 294-300 (1955)

6) Bauld, W.S.:
A method for the determination of oestriol, oestrone and oestradiol-17-ß in human urine by partition chromatography and colorimetric estination.
Biochem. J. 63, 488 (1956)

7) Breitner, I. und Eichstätter, A.:
Zur Methodik der quantitativ-chemischen Oestrogenbestimmung im Harn.
Ärztl. Forschung 8, 457-462 (1954)

8) Breuer, H., Nocke, W., Geissler, G. und Mitchell, F.L.:
Zur Bestimmung der Oestrogene im Urin.
Klin. Wschr. 672-674 (1957)

9) Brown, J.B.:
Urinary excretion of oestrogens during menstrual cycle.
Lancet 1, 320-323 (1955)

10) Brown, J.B.:
The urinary excretion of oestrogenes, pregnandiol and gonadotropins during the menstrual cycle.
J. Endocrin. 17, 401-410 (1958)

11) Brown, J.B.:
The relationship between urinary oestrogens and oestrogens produced in the body.
J. Endocrin. 16, 202-212 (1957)

12) Brown, J.B.:
Chemical method for determination of oestriol, oestron and oestradiol in human urine.
Biochem. J. 60, 185-193 (1955)

13) Brown, J.B.:
Urinary excretion of oestrogens during pregnancy, lactation and re-etablishment of menstruation.
Lancet 1, 704-707 (1956)

14) Brown, J.B., Bulbrook, R.D. und Greenwood, F.C.:
An additional purification step for a method for estimating oestriol, oestrone and oestradiol-17-ß in human urine.
J. Endocrin. 16, 49-56 (1957)

15) Buschbeck, H.:
Die quantitativen Faktoren der Oestrogenwirkung.
Münch. Med. Wschr. 94, 2471-2478 (1952)

16) Diczfalusy, E. und Halla, M.:
Urinary excretion of natural oestrogens in oophorectomized women treated with polyestradiol phosphate (PEP).
Acta endocrinol. 21, 321-336 (1956)

17) Dirscherl, W. und Dardenne, U.:
Spaltung von Steroidhormonestern durch menschliche und tierische Organe.
Biochem. Zschr. 325, 195-209 (1954)

18) Fishman, W.H.:
Zus. fassung in: Vitamins and Hormones, N.Y. IX, 213 (1951)

19) Flaschenträger, B. und Lehnartz, E.:
Physiologische Chemie, Band II: "Stoffwechsel" (1959)

20) Friedgood-Garst, H.B. und Haagen-Smith, Y.O.:
New method for separation of androgens from estrogens, and for partition of estriol from estrone-estradiolfraction with special reference to identification and quantitative microdetermination of estrogens by ultraviolet-absorption spectrophotometric.
J. Biol. Chem. 174, 523-524 (1948)

21) Furuhjelm, M. und Waller, R.:
Estination of oestrogenic substances in urine.
Acta endocrinol. (Kobenh.) 27, 482-492 (1958)

22) Gerli, M.:
Sulla possibilità di determinare nel ratto l'imsorgenza di miofibromi sperimentale de estrogeni.
Arch. ostet. e. ginecol. 55, 522-551 (1951)

23) Heller, C.G.:
Metabolism of the estrogens. The effect of liver and uterus upon estrone, estradiol and estriol.
Endocrinol. 26, 619 (1940)

24) Ittrich, G.:
Beitrag zur Follikelhormonbestimmung.
Dtsch. Gesundheitswesen 5, 159 (1958)

25) Jailer, J.W.:
Fluorimetric method for clinical determination of estrogens.
Endocrinology 41, 198-201 (1947)

26) Jayle, M.F.:
Détermination des steroids urinaires au cours de la gestation.
Presse med. 60, 377-378 (1952)

27) Kaiser, R.:
Über die Änderung des Oestrogen/Pregnandiol-Quotienten im Verlauf der Gravidität.
Arch. Gynäk. 192, 428-436 (1960)

28) Keller, M.:
Die Extraktion und Bestimmung von Phenolsteroiden im Urin.
Gynaekologia 136, 358-369 (1953)

29) Kober, S.:
Eine kolorimetrische Bestimmung des Brunsthormons.
Biochemic. J. 239, 209-212 (1931)

30) Kober, S.:
Colorimetric estimation of oestrogenic hormones.
Biochemic. J. 32, 357-365 (1938)

31) Layne, D.S. und Marrian, G.F.:
The isolation of 16-ß-hydroxyoestrone and 16-oxo-oestradiol-17-ß from the urine of pregnant women.
Biochemic. J. 70, 244 (1958)

32) Loke, K.H. und Marrian, G.F.:
Isolation of 2-methoxyoestrone from the urine of pregnant women.
Biochem. biophys. acta 27, 213 (1958)

33) Loke, K.H., Watson, E.J.D. und Marrian, G.F.:
The isolation of a sixth Kober chromogen from the urine of pregnant women and its provisional identification as 18-hydroxyoestrone.
Biochem. biophys. acta 26, 230 (1957)

34) Loke, K.H., Marrian, G.F., Johnson, W.S., Meyer, W.L. und Cameron, D.D.: Isolation und identification of 18-hydroxyoestrone from the urine of pregnant women.
Biochem. biophys. acta 28, 214 (1958)

35) Marrian, G.F. und Bauld, W.S.:
The isolation of 16-epi-oestriol from the urine of pregnant women.
Biochemic. J. London 59, 136 (1955)

36) Marrian, G.F. und Cohen, S.L.:
The application of the Kober-test to the quantitative estimation of oestrone and oestriol in human pregnancy urine.
Biochemic. J. London 28, 1603 (1934)

37) Marrian, G.F., Loke, K.H., Watson, E.J.D. und Panatoni, M.:
16-α-hydroxyoestrone in the urine of pregnant women.
Biochemic. J. London 66, 60 (1957)

38) Puck, A.:
Die Werte des Oestradiol, Oestron und Oestriol im peripheren Blut der Frau.
Geburtsh. und Frauenheilk. 18, 998 (1958)

39) Putzig, E.:
Diss. med. München 1958

40) Preedy, J.R. und Aitken, E.H.:
Plasmaoestrogen levels in late pregnancy, in the normal menstruating female and in the male.
Lancet 1, 272, 191-192 (1957)

41) Prosdocimi, U.:
Il metabolismo degli estrogeni stilbenici nella donna.
Attualità Ostetr. e. Ginecol. 3, 991 (1957)

42) Roberts, S. und Szego, C.M.:
The early reduction in uterine response to alpha - estradiol in the partially hepatectomized rat, and the subsequent enhancement during active liver regeneration.
Endocrinology 40, 73 (1947)

43) Ryan, K.I. und Engel, L.L.:
17-ß-Oestradiol, Bildung aus Oestron durch Leber- und Placentagewebe.
Endocrinology 52, 277-278 (1953)

44) Schering, Presseberichte 1960

45) Varangot, J., Seemann, A. und Cédard, L.:
Quantitative fluorimetric determination of blood estrogens.
C. rend. Soc. Biol. 150, 923-927 (1957)

46) Watson, E.J.D. und Marrian, G.F.:
Observations on the occurrence of 16-epi-oestriol in urine.
Biochemic. J. London 63, 64 (1956)

47) Westerfeld, W.W.:
Bildung inaktiver zweiwertiger Phenole aus phenolischen Oestrogenen.
Biochemic. J. London 34, 51 (1940)

48) Young, S., Bulbrook, R.D. und Greenwood, F.C.:
The correlation between urinary oestrogen and vaginal cytology.
Lancet 272, 350-353 (1957)

49) Zeller, S.:
Diss. med. München 1960

Herrn Professor Dr. W. BICKENBACH möchte ich hier herzlich danken für die wohlwollende Anerkennung der Arbeit.

Ebenso danke ich Herrn Privatdozenten Dr. R. KAISER für die Übernahme des Referates, für seine zuvorkommende Unterstützung und seine wertvollen Ratschläge.

Auch Fräulein U. Rogowski gilt mein Dank für ihre liebenswürdige und stete Hilfsbereitschaft.

# LEBENSLAUF

Am 15.7.1933 wurde ich als älteste Tochter des Fabrikanten Adolf Kurtz und seiner Ehefrau Luise Elisabeth, geb. Jegel, in Reutlingen (Württemberg) geboren.

Ich besuchte im Frühjahr 1940 bis zum Herbst 1944 die Grundschule in Reutlingen. Anschliessend trat ich am 31.8.1944 in die Isolde Kurz - Oberschule für Mädchen, Reutlingen, ein, an der ich am 25.2.1953 meine Reifeprüfung ablegte.

Am 27.4.1953 begann ich an der Ludwig-Maximilians-Universität in München das Studium der Betriebswirtschaft, das ich am 18.7.1956 mit der Ablegung des Examens für Diplom-Kaufleute beendete.

Am 24.8.1956 begann ich mit dem Medizinstudium an der Ludwig-Maximilians-Universität in München, nach fünf vorklinischen Semestern bestand ich hier am 24.2.59 die Ärztliche Vorprüfung.

Das erste klinische Semester hörte ich an der Heidelberger Universität, anschliessend kehrte ich zurück nach München und legte nach sechs klinischen Semestern an der Ludwig-Maximilians-Universität vom 5.3.62 bis zum 8.6.62 das Medizinische Staatsexamen ab.